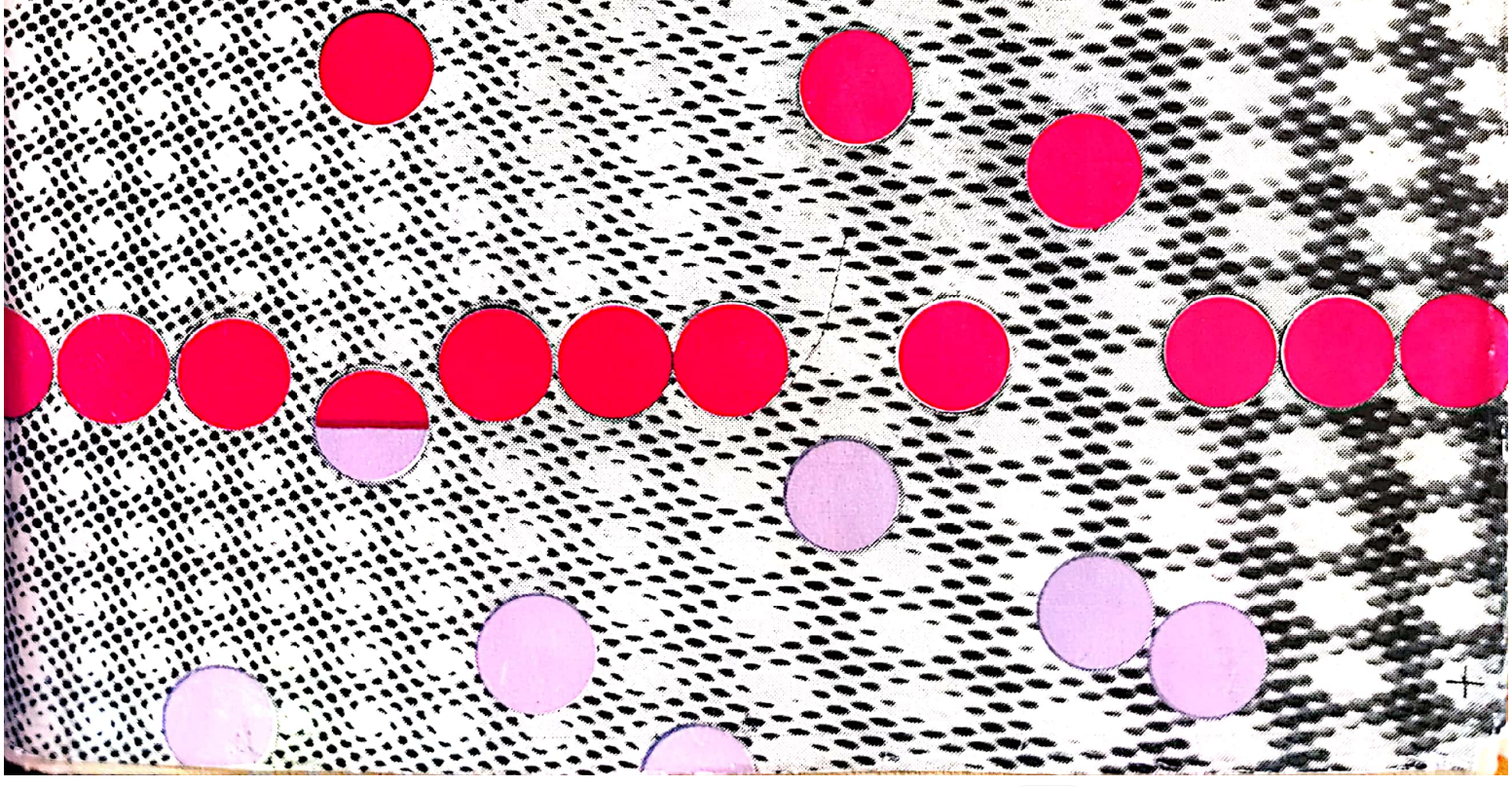
SL 57-59/027

Victor PREDA * Octaviana CRĂCIUN

REGENERAREA ȚESUTURILOR ȘI ORGANELOR LA VERTEBRATE



Scanned with OKEN Scanner

596

Victor Preda • Octaviana Crăciun

Regenerarea țesuturilor și organelor la vertebrate

Scanned with OKEN Scanner

Cuprins

Cuvînt înainte 9

1. Ce este regenerarea și manifestările ei morfologice 11

2. Morfohistogeneza regenerării 16

Regenerarea organelor externe 16 ✦ Regenerarea organelor interne 50

3. Forțele motrice ale regenerării 77

Forțele motrice locale intra- și intersubsistemice 78 ✦ Forțele motrice sistemice 79 ✦ Forțele motrice extrasistemice 80

4. Mecanismele generale ale procesului regenerativ 84

Bazele biochimice ale regenerării 84

Glucidele și metabolismul lor în cursul regenerării 85 ✦ Lipidele și metabolismul lor în cursul regenerării 94 ✦ Modificările acidului dezoxiribonucleic (ADN) în cursul regenerării 96 ✦ Modificările acidului ribonucleic (ARN) în cursul regenerării 105 ✦ Modificările proteinelor în cursul regenerării 111 ✦ Modificările mediatorilor chimici în cursul regenerării 124 ✦ Modificările enzimelor în cursul regenerării 124

Bazele nervoase ale regenerării 155
Bazele hormonale ale regenerării 180

5. Mecanismele locale ale procesului regenerativ 185

Rolul epiteliului regenerativ 185
Rolul și potențialitățile blastemului de regenerare 189
Rolul și potențialitățile bontului de amputare 203
Cîmpurile morfogenetice sau teritoriile de regenerare 206
Interrelațiile dintre țesuturile organului regenerativ 209

Scanned with OKEN Scanner

6. **Regenerarea ca proces sistemic** 226

7. **Modificarea procesului regenerativ prin influența factorilor interni și externi asupra organismului** 237

Rolul factorilor interni 237
Influența factorilor externi 237

Acțiunea radiațiilor ionizante 237 ✦ Acțiunea radiațiilor neionizante 242 ✦ Acțiunea ultrasunetelor 242 ✦ Acțiunea substanțelor chimice 242 ✦ Acțiunea factorilor biologici 245 ✦ Acțiunea factorilor mecanici și a altor factori fizici 246 ✦ Rolul alimentației animalului 247

8. **Heteromorfozele** 248

9. **Regenerare și ontogeneză** 251

10. **Regenerare și filogeneză** 256

Sistemele morfogenetice la adult 262
Sistemele morfogenetice și corelația lor cu întregul 267
Homeostazie și regenerare 270
Regenerare și autoreglare 273
Regenerare și selecție naturală 278

Bibliografie 285

La régénération des tissus et des organes chez les vertébrés (résumé) .. 311

Scanned with OKEN Scanner

Table des matières

Avant-propos 9

1. La régénération et ses manifestations morphologiques 11

2. La morpho-histogenèse de la régénération 16

La régénération des organes externes 16 ✦ La régénération des organes internes 50

3. Les forces motrices de la régénération 77

Les forces motrices locales intra- et inter-sous-systémiques 78 ✦ Les forces motrices systémiques 79 ✦ Les forces motrices extra-systémiques 80

4. Les mécanismes généraux du processus régénératif..... 84

Les bases biochimiques de la régénération 84

Les glucides et leur métabolisme au cours de la régénération 85 ✦ Les lipides et leur métabolisme au cours de la régénération 94 ✦ Les modifications de l'acide désoxyribonucléique (ADN) au cours de la régénération 96 ✦ Les modifications de l'acide ribonucléique (ARN) au cours de la régénération 105 ✦ Les modifications des protéines au cours de la régénération 111 ✦ Les modifications des médiateurs chimiques au cours de la régénération 124 ✦ Les modifications des enzymes au cours de la régénération 124

Les bases nerveuses de la régénération 155
Les bases hormonales de la régénération 180

5. Les mécanismes locaux du processus régénératif 185

Le rôle de l'épithélium régénératif 185
Le rôle et les potentialités du blastème de régénération 189
Le rôle et les potentialités du moignon d'amputation 203
Les champs morphogénétiques ou les territoires de régénération 206
Les interrelations entre les tissus de l'organe régénératif 209

Scanned with OKEN Scanner

6. La régénération en tant que processus systémique 226

7. La modification du processus régénératif par l'influence des facteurs internes et externes sur l'organisme 237

Le rôle des facteurs internes 237
L'influence des facteurs externes 237

L'action des radiations ionisantes 237 ✦ L'action des radiations non ionisantes 242 ✦ L'action des ultra-sons 242 ✦ L'action des substances chimiques 242 ✦ L'action des facteurs biologiques 245 ✦ L'action des facteurs mécaniques et d'autres facteurs physiques 246 ✦ Le rôle de l'alimentation de l'animal 247

8. Les hétéromorphoses 248

9. Régénération et ontogenèse 251

10. Régénération et phylogenèse 256

Les systèmes morphogénétiques chez l'adulte 262
Les systèmes morphogénétiques et leur corrélation avec l'entier 267
Homéostasie et régénération 270
Régénération et autorégulation 273
Régénération et sélection naturelle 278

Bibliographie 285

Résumé 311

Scanned with OKEN Scanner

Cuvînt înainte

Deşi regenerarea ca proprietate a materiei vii a fost mult studiată, totuşi chiar pe plan mondial s-a făcut simţită lipsa unei monografii moderne privind această problemă.

Regenerarea ţesuturilor şi organelor la vertebrate, *care reprezintă prima lucrare de sinteză asupra procesului regenerativ în literatura ştiinţifică românească, vine să împlinească această lipsă.*

Am pornit la elaborarea acestui volum avînd la bază cercetările noastre personale privind capacitatea de restituţie a ţesuturilor şi a organelor la vertebrate, cercetări efectuate pe parcursul unui lung şir de ani, care, însumaţi, ating aproape o jumătate de secol. La acestea am adăugat un vast şi totodată valoros material bibliografic, în care publicul cititor să găsească prezentarea de date şi interpretarea lor într-o viziune sistemică.

De la bun început ne-am propus să înmănunchem în lucrare problemele majore ale acestui subiect, în sensul că ne-am referit la deosebirile calitative dintre tipurile de regenerare, la morfogeneza şi la forţele motrice ale acestui proces, la mecanismele generale şi locale ale restituţiei, precum şi la influenţa factorilor interni şi externi cu acţiune excitatorie sau inhibitorie asupra refacerii ţesuturilor şi organelor. Problematica variată pe care am abordat-o, ca şi modul în care am apreciat că trebuie sistematizat materialul în ansamblul lui, sperăm să ne ajute în a răspunde celor mai exigente cerinţe ale unui cerc larg de cititori, şi anume biologi şi ciberneticieni, medici şi biochimişti, zoologi şi geneticieni.

Ne exprimăm mulţumirile şi recunoştinţa noastră anticipată acelor cititori care, prin observaţii critice, îşi vor aduce contribuţia la îmbunătăţirea şi la completarea lucrării.

AUTORII

Scanned with OKEN Scanner

Regenerarea reparatorie cunoaşte, la rîndul ei, mai multe forme, şi anume:

Regenerarea completă sau adevărată (restitutio ad integrum), în care în locul ţesutului, al organului sau al părţii corporale distruse apare un nou ţesut, organ sau parte corporală, morfologic identice cu cele iniţiale. Această formă este foarte răspîndită la vertebrate. Astfel, la peşti există anumite restituţii limitate privind articolele terminale ale înotătoarelor, solzilor, operculelor, fălcii inferioare şi anumitor porţiuni limitate ale extremităţii cefalice. La amfibiile urodele pot fi înlocuite coada, fălcile sau membrele (membrul anterior şi centura scapulară, membrul posterior şi centura pelviană). Membrele urodelelor, extirpate în acelaşi timp cu oasele centurii corespunzătoare, duc la o regenerare normală a membrului respectiv şi a centurii (1374). Centurile membrelor sînt, dealtfel, capabile de regenerare la larvele de *Ambystoma* chiar dacă membrul respectiv este lăsat pe loc (SWEER şi PARSONS, 1929, citaţi după (1)). La reptile pot fi înlocuite coada şi organul vizual. La păsările mai ales din familia palmipedelor poate fi înlocuit ciocul, iar la găini, berze şi papagali maxilarul. La toate vertebratele pot fi înlocuite părţi tegumentare pierdute (776). În general însă, organele externe ale mamiferelor nu pot regenera, în afară de glanda mamară la unele specii. Totodată se constată că la toate vertebratele poate fi regenerat vîrful botului, inclusiv organul olfactiv.

Regenerarea incompletă (substituţia sau cicatrizarea), în care defectul tisular este înlocuit printr-un ţesut conjunctiv proliferat, care se condensează şi se retractă (ţesut cicatriceal). Spre deosebire de regenerarea completă, unde se constată restabilirea părţilor pierdute, în cicatrizare are loc doar închiderea plăgii. Cicatrizarea cunoaşte mecanisme analoge în tot regnul animal. Orice factor care provoacă cicatrizarea împiedică restituţia părţilor pierdute. Astfel, în amputarea membrelor la triton, arderea suprafeţei de amputare provoacă o cicatrizare care împiedică restituţia membrului (776).

Unii autori consideră că regenerarea incompletă nu este de fapt o regenerare, ci o expresie a unui proces diferit (776). Cu toate acestea, cercetări mai recente (550) arată că plaga la mamifere, atunci cînd afectează numai epidermul, este urmată de o regenerare adevărată, în timp ce excizarea concomitentă a epidermului şi a dermului subiacent conduce la o cicatrizare. Tot cercetări recente au demonstrat că în rănile cutanate de dimensiune redusă pot avea loc regenerări adevărate, indiferent dacă ele afectează numai epidermul izolat sau afectează concomitent epidermul şi dermul. Mai mult decît atît, aceste cercetări conduc la concluzia că vindecarea plăgilor externe de mici dimensiuni nu se face numai prin apariţia ţesutului de granulaţie, urmat de cicatrizare, ci şi printr-o regenerare adevărată în urma unui proces de regenerare hipertrofică a pielii din jurul plăgii şi de asemenea că ţesutul cicatricial se poate reorganiza în ţesut epitelial tipic (678), (716), (721).

Hipertrofia regenerativă este un proces de restituţie a organelor interne, care apare la toate vertebratele. Ţesuturile nu cresc la nivelul suprafeţei de amputare, ci printr-o augmentare a restului organului amputat (1347). Este, de pildă, cazul regenerării ficatului de broaşte adulte sau de mormoloci (LIOZNER, 1961), a ficatului de pasăre şi de mamifere (SIDOROVA, 1961), a pancreasului de cobai (LEGIDA, 1962), a tiroidei de şobolan (GIBADULIN, 1962), a glandelor salivare şi lacrimale de şobolan (BABAIEVA, 1961, 1962, toţi citaţi după (680)) etc.

Scanned with OKEN Scanner

S-a constatat astfel că, în toate formele de regenerare reparatorie, reglarea este consecința restabilirii echilibrului distrus prin mutilații.

Termenul de regenerare poate fi utilizat în sens larg, atunci cînd este vorba de restaurarea pierderilor în traumatismele mari (regenerare completă), sau în sens restrîns, atunci cînd este vorba de restaurarea cronică a pierderilor mai mici (680).

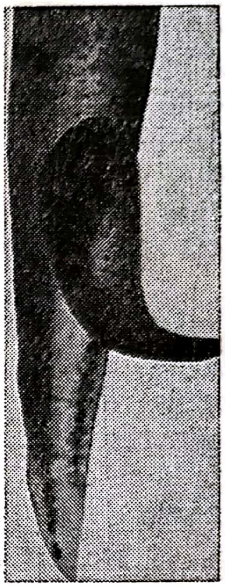


Fig. 1. — Coadă supranumerară la triton (după Kiortsis).

Regenerarea atipică are loc în lipsa restabilirii echilibrului distrus prin mutilații și îmbracă următoarele forme:

Regenerarea prin heteromorfoză, în care la nivelul leziunii se formează un țesut sau organ impropriu locului respectiv. Este astfel cazul formării de organe identice (duble, triple etc.) supranumerare, în locul unui singur organ pierdut, la toate vertebratele inferioare (fig. 1), precum și al formării de organe asimetrice sau a unei suprapoducții tisulare cu hiperregenerare (supraregenerare) la om. Uneori, organul regenerat este mai mic, ca talie (hiporegenerat), în raport cu organul înlocuit. Există cazuri în care organul formează o adevărată monstruozitate, care nu se aseamănă cu nici o parte a corpului, precum și cazuri în care, în locul unui organ pierdut, regenerează un alt organ. În fine, alteori regeneratul poate fi orientat vicios față de poziția sa normală.

În acest cadru pot fi înglobate și procesele de *regenerare metaplazică*, în care, în cursul regenerării, pot să apară, dintr-o anumită varietate de celule sau țesuturi, alte tipuri de celule sau țesuturi, ca, de pildă, epiteliul cubic în locul epiteliului pavimentos, țesutul osos sau cartilaginos în locul țesutului conjunctiv fibros etc.

Rezultă deci că regeneratele atipice de heteromorfoză se deosebesc, fie calitativ, fie cantitativ, de regeneratele tipice sau de organul pe care îl înlocuiesc.

Hipertrofia compensatorie, care constă în creșterea considerabilă în volum a unui organ pereche în urma extirpării partenerului său simetric, fie prin hipertrofie, fie prin hiperplazie, așa cum este cazul în extirparea unui rinichi, a unei glande suprarenale, a unei glande mamare sau a unei glande genitale. Caracteristica acestui proces este faptul că, în cazul organelor perechi, nu regenerează organul ablat, ci organul pereche. Procesul de restituție asigură în acest caz refacerea cantității de țesut funcțional, fiind fără efect asupra morfogenezei structurii ablate. Hipertrofia compensatorie este întrucîtva asemănătoare hipertrofiei regenerative, dar se deosebește de aceasta prin faptul că exereza găsește răsunet în organul intact, pe care injuria nu l-a afectat direct. Cu toate că unii cercetători (803) încadrează hipertrofia compensatorie alături de hipertrofia regenerativă, ținînd seama de prezența caracterului compensator al ambelor procese, totuși procesul de hipertrofie compensatorie nu poate fi considerat ca o formă a regenerării (678), avînd în vedere că aceste două fenomene de hipertrofie se pot exclude reciproc. Se știe că rinichiul capabil de hipertrofie compensatorie are o slabă putere regenerativă. Se consideră că hipertrofia compensatorie este explicabilă prin stimulul metabolic dat de plusul de metaboliți aduși din sînge la organul restant, ceea ce înseamnă o inducție la nivel molecular.

Scanned with OKEN Scanner

Autotomia, care constă într-o regenerare reflexă, spontană, după amputare, a unor porțiuni ale corpului (crabi, șopîrle). Autotomia nu este necesar legată de o refacere a organului pierdut. Astfel, autotomia cozii unor rozătoare nu este urmată de refacerea ei.

Trebuie făcută, pe de altă parte, o distincție netă între *procesul regenerativ*, care constă în restaurarea părților lezate ale unui organism, și *embriogeneza somatică*, în care organisme întregi se dezvoltă pornind de la un fragment somatic (1228), (1273). Procesul de embriogeneză somatică este întotdeauna precedat de o dezorganizare totală sau parțială a organismului, prin alterarea corelațiilor dintre celule, țesuturi și organe. Fenomenele de adevărată regenerare nu pot avea însă loc într-un organism în care se petrec procese de dezorganizare.

În categoria embriogenezei somatice se includ poliembrionia la vertebrate, embriogenezele induse experimental, teratoamele și procesele care au loc la organisme capabile și de reproducere asexuată. Astfel, un blastomer izolat din cadrul unei blastule de amfibian este capabil să dea naștere unui organism întreg. Fenomenul de embriogeneză somatică este cu atît mai intens cu cît organismul este mai puțin integrat și cu cît el are o capacitate mai mare de reproducere asexuată.

Iradierea animalelor capabile de ambele procese demonstrează că regenerarea și embriogeneza somatică constituie două procese diferite. În acest caz, iradierea poate împiedica regenerarea, fără a opri însă embriogeneza somatică.

Din toate aceste date rezultă că stimulul provocat de leziune are ca efect readucerea celulelor deja diferențiate la o stare de plasticitate aparte, stare care scoate la iveală plasticitatea intrinsecă a materiei vii și care este mascată de calitatea țesuturilor diferențiate. Procesul regenerativ este deci datorat unor celule care își păstrează potențialitățile histogenetice foarte intense, caracter corelat cu o foarte slabă diferențiere morfologică. Raporturile care există între aceste celule, la individul pe cale de regenerare, și organizarea regeneratului conduc la două tipuri mari privind aspectul morfologic al organogenezei regenerative, epimorfoza și morfalaxa.

Epimorfoza constă în acumularea, proliferarea și diferențierea, la nivelul suprafeței de amputare, a unui grup de celule locale, cu potențialități histogenetice intense și cu o slabă diferențiere morfologică, celule provenite din organismul în regenerare, fie din regiunile învecinate plăgii, fie din regiuni puțin îndepărtate de plagă. Aceste celule suferă mai întîi un proces de dediferențiere, urmat de proliferarea și apoi de diferențierea lor. Caracteristica epimorfozei este proliferarea celulară. Epimorfoza este modalitatea cea mai tipică și cea mai frecventă de regenerare la vertebrate, toate părțile neoformate ale regeneratului provenind din acumularea celulelor amintite, fără însă ca în părțile vechi ale organismului să aibă loc transformări notabile. Un exemplu tipic de epimorfoză îl constituie regenerarea membrelor la amfibiile urodele (967).

Avînd în vedere mecanismele lor diferite (680), trebuie făcută o distincție între epimorfoză (creștere la suprafața plăgii), regenerarea hipertrofică și regenerarea compensatorie, deși toate intră în cadrul procesului de restaurare a organismului.

Scanned with OKEN Scanner

Morfalaxa constă în înlocuirea vechilor structuri cu structuri noi în urma remanierii morfohistologice, mai mult sau mai puţin complete, a părţilor vechi, graţie intervenţiei celulelor cu potenţialităţi histogenetice intense şi cu o slabă diferenţiere morfologică. Această remodelare constă în dispariţia unora dintre structuri şi în transformarea profundă a celorlalte. Un exemplu de morfalaxă îl constituie refacerea unei planarii, pornind de la un fragment al ei, în care au loc remanieri profunde, unele structuri dispărînd, iar altele suferind transformări intense. Procesul de morfalaxă se bazează pe dediferenţiere şi pe histoliză, pe migraţia activă a numeroase elemente celulare, precum şi pe noi diferenţieri. Pe primul plan, ca o caracteristică a procesului de morfalaxă, sînt procesele de dediferenţiere şi de migrare celulară. Morfalaxa este mai frecventă la animalele inferioare. Procesele de epimorfoză şi de morfalaxă sînt independente între ele într-un grad destul de mare (1), (597), cu toate că deosebirea nu este radicală, dat fiind că este vorba de aceleaşi procese fundamentale, care au doar etape preponderente diferite. Se constată astfel că există chiar numeroase tipuri de tranziţie între epimorfoză şi morfalaxă. Într-adevăr, epimorfoza şi morfalaxa sînt două tipuri de regenerare care diferă între ele numai la scară anatomică, în sensul că epimorfoza se desfăşoară la scară histologică printr-o migrare mai redusă a elementelor vechilor ţesuturi şi prin predominarea proliferării acestor elemente la nivelul lor de acumulare, pe cînd morfalaxa este caracterizată printr-o migrare activă a elementelor din vechile ţesuturi.

Cu alte cuvinte, în regenerarea epimorfotică sînt precumpănitoare fenomenele de la suprafaţa de amputare, în timp ce în regenerarea morfalactică predomină fenomenele de restructurare a părţilor restante. În primul caz, creşterea şi diferenţierea regeneratului se petrec mai mult sau mai puţin simultan, în timp ce în al doilea caz diferenţierea regeneratului precedă creşterea lui.

Că deosebirea dintre cele două forme nu este radicală o demonstrează faptul că şi în epimorfoză se pot întîlni anumite transformări care afectează ţesuturile vechi, transformări care nu sînt însă notabile şi precumpănitoare. Astfel, regenerarea cozii la amfibiile urodele se produce atît prin epimorfoză, cît şi prin morfalaxă (1316), constatîndu-se posibilităţi de reglare morfalactice la nivelul ariei amputaţionale (1087), ceea ce dovedeşte existenţa formelor de trecere între cele două tipuri ale regenerării.

Scanned with OKEN Scanner

2 *Morfohistogeneza regenerării*

Regenerarea organelor externe

Este ştiut că, atunci cînd organismele vertebratelor suferă o lezare externă, urmată de pierderea unei părţi a organismului sau de o simplă pierdere a ţesuturilor cutane, apare mai întîi la nivelul plăgii un coagul sanguin, care provine din sîngerare şi din exsudarea ţesuturilor, coagul care pune capăt hemoragiei produse de leziune. Ulterior urmează o *epitelializare* a plăgii pe socoteala proliferării celulelor epiteliale situate la marginea plăgii.

Paralel şi în continuare are loc fagocitarea elementelor histolizate care provin în urma distrugerii şi remanierii ţesuturilor afectate prin lezare, deci eliminarea ţesuturilor mortificate (643). Histoliza are însă un rol deosebit în formarea blastemului de regenerare (129), (131), (167), (186), (797), (799), (1027), (1065).

Odată terminată epitelializarea, apar două forme ale procesului regenerativ, după poziţia pe care o ocupă animalul în scara filogenetică:

— formarea blastemului de regenerare;

— formarea ţesutului de granulaţie.

Blastemul de regenerare. Regenerarea reparatorie completă implică apariţia, sub epiteliul restaurat, a unui ţesut complex, denumit *blastem de regenerare.* Acest blastem apare, în general, în procesele reparatorii ale membrelor sau cozii vertebratelor inferioare (peşti, amfibii). El constă, într-o primă fază, din acumularea subepitelială a unor celule mezenchimale dediferenţiate provenite din ţesuturile vechi ale plăgii, celule care migrează sub epiteliul regenerat (143). Blastemul este deci constituit din celule omogene, populaţie nediferenţiată de celule asemănătoare mezenchimului.

În decursul stadiului de dediferenţiere a blastemului, se succedă mai multe faze, şi anume:

1) proliferarea ţesuturilor bontului de amputare şi pierderea caracterelor diferenţiale ale celulelor proliferate;

2) migrarea celulelor din bont în regiunea subepitelială pentru a forma blastemul;

3) organizarea blastemului;

4) maturarea blastemului, fază în care celulele omogene iau aspectul fibroblastelor banale.

Primele două faze constituie *stadiul preblastemic* sau *stadiul nedeterminat,* în care are loc acumularea celulelor nediferenţiate sub epiteliul regenerat, stadiu în care celulele au un caracter tînăr mezenchimatos.

Scanned with OKEN Scanner

În ultimele două faze, celulele își păstrează caracterul lor dediferențiat pînă cînd are loc, prin proliferare, o acumulare suficientă de celule blastemale, astfel încît să se declanșeze stadiul de diferențiere (409), (488), (776).

Au existat diferite păreri cu privire la natura celulelor blastemale dediferențiate. După unele, celulele respective se găsesc ca atare sub formă latentă în țesuturile vechi. Alte păreri consideră că aceste celule provin din remanierile celulare ale țesuturilor vechi ale plăgii.

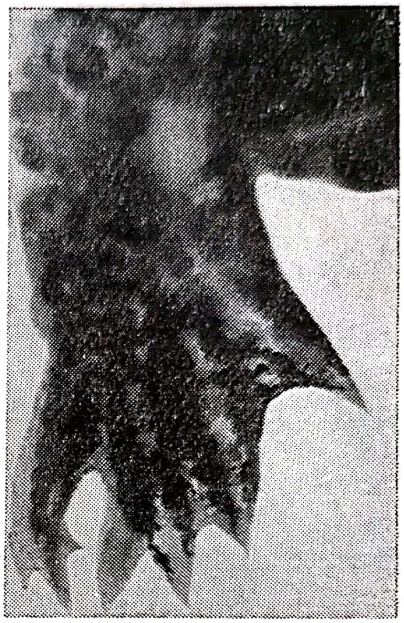


Fig. 2. — Regenerat cu 6 degete, dintre care unul bifid, în urma unei grefe de testicul pe membrul iradiat și amputat de axolotl (după Lazard).

Vlatkovic (1341) susține că la *Triton cristatus* și la *Salamandra maculosa* blastemul ar proveni din celule nediferențiate de rezervă (histiocitoblaste), foarte numeroase și existente în starea normală a țesutului conjunctiv. Aceste celule ar deveni active după lezare și ar migra în aria traumatizată pentru a forma blastemul. Ele ar avea potențialități multiple și s-ar caracteriza printr-o talie mai mare decît cea a celulelor mezenchimale, cu care nu pot fi confundate.

Cercetările lui Lazard (640) privind restabilirea capacității regenerative la axolotl cu membrele iradiate ar confirma prezența migrării unor celule germinale nediferențiate în cursul edificării blastemului de regenerare a membrelor amputate și iradiate atunci cînd se face un transplant de gonadă la acest nivel. Lazard reușește astfel să restabilească potențialitatea regenerativă pierdută prin iradiere (fig. 2). Autorul presupune o participare a unor celule germinale nediferențiate la formarea blastemului. Aceste celule sînt foarte tinere și se comportă ca elemente totipotente în condițiile neobișnuite în care se găsesc. Așadar, la nivelul unui axolotl adult, ar exista, în afara teritoriului de regenerare, celule cu potențialități foarte extinse, capabile să devină sursa unui regenerat de membru. Aceste celule, ajunse în zona teritoriului de regenerare, ar suferi influențele inductoare morfogenetice ale acestuia. Conform teoriei lui Lazard, celulele capabile să edifice un blastem ar fi diseminate în tot corpul, fiind conținute și de către viscere sau de zonele superficiale ale animalului, întrucît anumite circumstanțe sînt în măsură să le mobilizeze.

Majoritatea autorilor contemporani infirmă însă această ipoteză, considerînd că celulele blastemale dediferențiate nu provin decît în urma remanierii țesuturilor vechi ale organismului.

Problema care se pune este de a ști ce țesuturi participă la formarea acestor elemente dediferențiate, care este poziția acestor țesuturi față de plagă și cum are loc dediferențierea celulelor respective.

O serie de autori (385), (764) considerau că celulele blastemale sînt generate doar de epiteliul regenerativ (285), (443), (1014), (1151), (1257), (1259), (1262), (1375) sau atît de epiteliul regenerativ (stratul său germinativ), cît și de celulele musculare și fibroblastele țesuturilor subepidermice, celulele epiteliale suferind o migrare subepidermică și o transformare în celule mezodermale. Aceste ipoteze au fost contestate însă de mulți alți autori

10.033

care au folosit metodele cele mai moderne de cercetare, autori care au ajuns la concluzia că blastemul nu poate proveni din celulele epiteliale (27), (28), (30), (32), (104), (160), (185), (186), (238), (270), (481), (482), (483), (484), (490), (494), (518), (519), (582), (691), (821), (1041), (1042), (1249).

Alți autori apreciau că, în geneza celulelor blastemale, sînt implicate fie leucocitele (206), (347), fie toate celulele sanguine, alături de celulele mezenchimatoase ale țesuturilor bontului de amputare (498), (531). Originea hematogenă a celulelor blastemale nu a fost însă certificată ulterior (27), (28), (30), (32), (149), (160), (165).

Cercetările actuale, efectuate cu metode moderne, arată însă că *celulele blastemale provin exclusiv din țesuturile mezodermice situate sub epiteliul regenerativ*, deci celulele țesuturilor vechi. Astfel, cercetările efectuate prin folosirea razelor X (149), (161), (165), (1060), (1199) au demonstrat că sursa celulelor blastemale este mai degrabă locală decît sistemică.

Țesuturile mezodermice subepiteliale suferă o remaniere în urma căreia au loc mitoze și dediferențieri, morfologic limitate, ale celulelor provenite prin diviziune din porțiunile lezate. De fapt, diviziunile celulare încep foarte curînd în țesuturile vechi și în imediata vecinătate a plăgii (185), (186). Proliferarea relatată este urmată imediat de o dediferențiere a acestor celule, care devin astfel celule blastemale caracterizate printr-o cantitate foarte mică de citoplasmă în jurul nucleilor (846). Dediferențierea țesuturilor în membrele amputate ale larvelor de *Ambystoma*, țesuturi situate în regiunea imediată suprafeței de amputare, denotă că sursa de celule blastemale își găsește originea în țesuturile bontului de amputare (160), (483), (1249).

Blastemul provine deci din transformarea celulelor care compun țesuturile vechi ale bontului de amputare în celule de tip mezenchimatos. Studiile efectuate la microscopul electronic au arătat că, în cursul dediferențierii țesuturilor specializate, au loc o pierdere gradată a formațiunilor intra- și extracelulare caracteristice celulelor teritoriului respectiv (miofibrile, matriță cartilaginoasă etc.), o augmentare a granulelor ribonucleoproteice, modificări ale nucleului și ale reticulului endoplasmatic. Aceste modificări unifică, într-o organizare infrastructurală simplificată, celulele blastemale de origine diferită (481), (482), (483), (1041).

Celulele dediferențiate, provenite pe această cale, migrează apoi în plagă, acumulîndu-se spre partea apicală a plăgii, sub epiteliu.

Unii autori susțin că la elaborarea celulelor blastemale participă numai țesutul conjunctiv (196), (767), iar alții că participă doar musculatura lezată (483). S-a constatat însă că, în realitate, toate țesuturile mezodermice vechi ale bontului de amputare participă, în grade diferite, la această elaborare (27), (28), (30), (32), (69), (72), (104), (143), (145), (163), (165), (182), (185), (186), (237), (304), (333), (338), (481), (482), (483), (490), (494), (502), (573), (819), (844), (845), (846), (1153), (1249), (1354).

Cea mai mare parte a celulelor dediferențiate ale blastemului de regenerare provin din fibroblastele țesutului conjunctiv al bontului de regenerare. O bună parte din celulele blastemale provin însă și din capetele amputate ale mușchilor bontului (185), (186), (509), (512), 513). Astfel, celulele blastemale foarte tinere ale membrului sau cozii de amfibii prezintă o miozină citoplasmatică difuză, de unde proba originii lor din fibrele musculare lezate (509). Alte cercetări (482), (483) au arătat că celulele mononucleare care apar în preajma porțiunilor nelezate ale mușchiului lezat sînt formate pe socoteala

Scanned with OKEN Scanner

fibrelor musculare multinucleate. Ele se separă de aceste fibre și, la scurt timp, prezintă miofibrile citoplasmatice, iar după cîteva zile de dediferențiere progresivă își pierd caracterele de origine (1041). După administrarea de timidină marcată la diferite intervale după amputarea membrelor anterioare ale salamandrelor, se constată că celulele marcate ale mușchilor, ale endo- și perimisiului, contribuie la formarea blastemului (490).

S-a mai constatat la *Triton viridescens* că, alături de fibroblaste și de celulele mușchilor striați, mai iau parte la formarea blastemului și celulele gliale Schwann (490). Celulele tecii nervoase pot da naștere la celule blastemale prin dediferențierea lor, numărul celulelor blastemale produse fiind în relație cu diametrul terminal al nervilor (1385).

Celulele blastemale mai pot proveni din țesutul adipos, periostul vertebrelor și osteocitele vertebrale la reptile (1119) sau din celulele cartilaginoase, pericondrale, osteocitare și periosoase la urodele. Acest proces nu este însă absolut necesar, întrucît, în absența oaselor sau a cartilajelor bontului, realizată pe cale experimentală, se produce formarea blastemului, cu toată absența elementelor scheletice sau cartilaginoase (92), (94), (347), (1065).

Cu toate că majoritatea autorilor consideră că elementele blastemale provin numai din țesuturile mezodermice situate în vecinătatea plăgii (69), (72), (104), (143), (145), (163), (165), (185), (338), (435), (446), (481), (482), (483), (490), (809), (967), (1249), s-au descris și cazuri în care participă și celule provenind din regiuni îndepărtate de plagă. Este astfel cazul clasmatocitelor, celule migratoare de origine mezenchimatoasă, puse în evidență în formarea blastemului codal la triton (944), sau al fibroblastelor migratoare, care provin din regiuni mai îndepărtate de plagă și care se pare că migrează de-a lungul tracturilor nervoase (182), (333), (938). În fine, s-a mai constatat că și celulele dermului care înconjură plaga pot participa la formarea blastemului (32).

Celulele dediferențiate ale blastemului nu degenerează, fapt demonstrat prin studiile autoradiografice privind sinteza proteinei (376) și prin studiile electronomicroscopice (483), care arată că aceste celule nu suferă o histoliză semnificativă.

Apariția blastemului de regenerare nu este constantă la toate vertebratele inferioare. Sînt unii pești, ca *Lampetra* (726), la care blastemul de regenerare este absent, regenerarea efectuîndu-se printr-un țesut de granulație. Aceasta face ca forma de regenerare prin blastem și cea de regenerare prin țesut de granulație să se împletească în filogenia vertebratelor inferioare.

Pe de altă parte, se constată că la urodelele adulte acumularea de celule subepiteliale conduce la formarea unui blastem mult mai complicat decît cel care apare în regenerarea pielii la amfibii sau a organelor externe la pești (1).

Procesul de distrugere și cel de dediferențiere sînt considerate ca fiind trăsăturile cele mai importante ale procesului regenerativ (163), (186), (490), fiind însoțite întotdeauna de activitatea mitotică și de proliferarea celulară a bontului regenerativ, constituind factorii de activizare ai procesului regenerativ (1), (1260), (1267).

Formarea regeneratului nu comportă însă numai fenomene de distrugere și de dediferențiere, ci și fenomene de construcție, pe seama blastemului edificîndu-se țesuturile și organele regeneratului.

În acest scop, stadiul de dediferențiere este urmat de *stadiul de creștere* al blastemului, care survine după stadiul de maturare a acestuia și este rezul-

Scanned with OKEN Scanner

tatul activității mitotice a celulelor sale, deci al proliferării celulelor ce-l constituie (304), (493), (643), (1249). În stadiile timpurii ale regenerării apendicelor (membre, cozi), creșterea este mult mai accentuată în partea apicală decît în partea proximală a regeneratului (32), (304), (493). Procesul proliferativ constituie caracteristica regenerării epimorfotice.

Procesul proliferativ are însă intensități diferite. În regenerarea plăgilor pielii, proliferarea este redusă. În regenerarea organelor externe (membre, coadă) însă, proliferarea este abundentă. Ea conduce în ultimul caz la formarea succesivă a unui *mugure precoce* (vizibil), apoi a unui *mugure de formă bulbară* și, în fine, a unui *mugure conic*, încheindu-se cu formarea unui mulaj grosier al organului amputat (1065), (1132) (fig. 3).

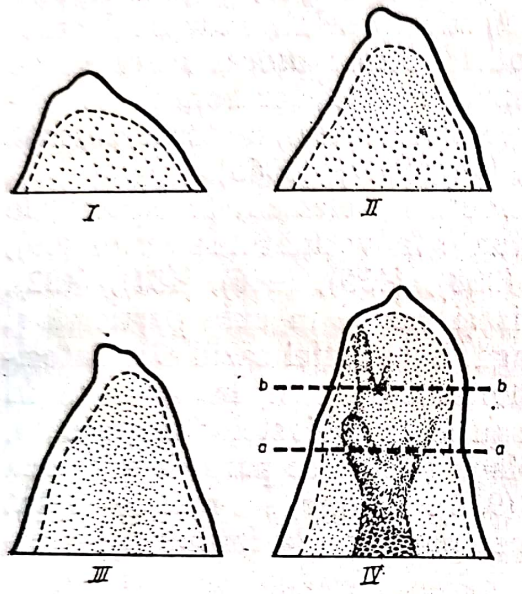


Fig. 3. — Stadiile de creștere în formarea regeneratului de membru anterior la urodele. Rudimentele mezenchimale și scheletale punctate (după Faber).

I, II = blasteme conice; III = blastem timpuriu al paletei digitale; IV = regenerat al paletei digitale cu rudimente ale humerusului, radiusului, cubitusului și primului deget (partea humerală precartilaginoasă): *a*, secțiune la nivelul oaselor membrului; *b*, secțiune la nivelul falangelor.

Raportul dintre desfășurarea celor două stadii principale ale regenerării (formarea blastemului pe de o parte, creșterea și diferențierea blastemului pe de altă parte) este diferit după specie. Creșterea regenerativă este accelerată față de creșterea normală, dar de aceeași natură. Limitarea creșterii este datorată stabilirii unui echilibru fiziologic între părțile organului regenerativ. Viteza de regenerare augmentează uneori în același sens cu masa organului rezecat, iar alteori în sens invers (1).

Stadiul de creștere este urmat de *stadiul de diferențiere* al blastemului. Am văzut că blastemul este format din celule nediferențiate, care nu se deosebesc histologic de fibroblastele banale. Cu toate acestea, celulele blastemului nu sînt fibroblaste banale, dat fiind că au proprietăți selective specifice, dînd naștere, prin diferențierea lor ulterioară, țesuturilor și organelor unui anumit regenerat. Astfel, celulele blastemale de origine diferită se vor diferența în țesuturi și organe diferite. În felul acesta, stadiul de diferențiere conduce la edificarea regenerativă a organului amputat.

Din țesutul blastemal iau naștere țesuturile conjunctiv, osos, cartilaginos și muscular ale regeneratului. Celulele blastemale funcționează însă și ca fibroblaste, fiind responsabile de fibrogeneză. Cartilajul este primul țesut care se diferențiază în blastem. Epidermul, nervii și vasele sanguine se reconstituie prin creșterea țesuturilor vechi omologe.

Diferențierea restaurează reactivitatea țesuturilor, pierdută odată cu dediferențierea (360).

Scanned with OKEN Scanner

În concluzie, stadiile prin care trec organele externe în cursul regenerării lor sînt dediferențierea și acumularea celulelor blastemale, creșterea prin proliferare a blastemului și diferențierea celulelor blastemale, ultimul proces efectuîndu-se gradat (104), (643), (1132), (1249). Aceste etape nu sînt, în realitate, net delimitate între ele, ci se suprapun parțial, în sensul că creșterea blastemului începe ceva mai înainte de desăvîrșirea maturației acestuia, iar diferențierea puțin mai înainte de terminarea procesului de creștere.

Studitki (1217) consideră că termenii de dediferențiere și de diferențiere sînt improprii, fiind necesară înlocuirea lor cu cei de stare plastică și de stare funcțională a celulelor regenerative.

Țesutul de granulație. După cum am mai spus, organele externe nu regenerează la vertebratele superioare. La aceste animale se constată doar o regenerare incompletă (cicatrizare) a plăgilor cutanate, care afectează epidermul și dermul.

Procesul de cicatrizare cunoaște mecanisme analoge la toate vertebratele. Producerea unei plăgi cutanate este urmată de o hemoragie și de formarea unui cheag, alcătuit din celule inflamatorii și fibrină. Sub acest cheag începe epitelializarea plăgii, care se face în mod identic ca la vertebratele inferioare. În decursul acestui proces au loc fenomene de histoliză și de autoliză a celulelor, urmate de fagocitarea detritusurilor celulare, precum și de o proliferare a capilarelor de la baza plăgii către suprafața ei.

Țesuturile subepidermice au însă o altă evoluție decît la vertebratele inferioare, datorită apariției unei noi formațiuni, denumită *țesut de granulație*, care este echivalentul blastemului de regenerare, dar are caracteristici speciale și o evoluție aparte față de blastem.

Țesutul de granulație apare deja la reptile, unde se substituie blastemului de regenerare. El provine din două surse, și anume *sursa hematogenă* (în primele faze ale formării sale) și *sursa tisulară* (în fazele mai tardive). Sursa tisulară o constituie dermul și hipodermul, care bordează plaga. Celulele-mamă sînt leucocitele, fibroblastele, histiocitele și mastocitele. Canavaua țesutului de granulație este formată dintr-o formațiune precolagenă.

La început, țesutul de granulație este format dintr-un țesut conjunctiv tînăr, alcătuit din celule și o substanță intercelulară mucoidă. Urmează o fază de sincițiu celular, acoperit de celule conjunctive tinere. Ulterior se creează, prin proliferarea acestor celule, o *zonă productivă* superficială, alcătuită din celule tinere proliferative, și o *zonă de organizare* profundă, în care apar fibre conjunctive în spațiile intercelulare. Cu timpul, zona de organizare se îngroașă, tot ca o consecință a proliferării, prin formarea continuă de fibre conjunctive și prin încorporarea progresivă a celulelor conjunctive născute la nivelul zonei productive (fibroblaste). Cu această ocazie se face și joncțiunea dintre dermul vechi și țesutul conjunctiv neoformat al plăgii. Ulterior, încep o reducere a ariei plăgii și o diferențiere a fibroblastelor în fibrocite. Se constată absența perilor și a glandelor din această regiune (776).

În urma formării țesutului de granulație se constată o predominanță a fibrelor conjunctive la nivel subepidermic și apariția de cicatrice. Cicatrizarea este datorată atît contracției țesutului de granulație, consecință a contracției componentelor sale extracelulare (colagen și mucopolizaharide), cît și rearanjării prin contracție a fibroblastelor constituente (550).

Scanned with OKEN Scanner

După unii autori, cicatrizarea prin țesut de granulație nu constituie o regenerare localizată, ci o simplă adiție a structurilor preexistente ale pielii din jurul plăgii (creștere intususceptivă (550)).

Mai este de remarcat faptul că, dacă la regenerarea prin blastem stadiul de dediferențiere și cel de migrare sînt mai dezvoltate, la regenerarea prin țesut de granulație primul stadiu al regenerării este foarte redus față de al doilea (diferențiere), în care precumpănește formarea celulelor și a fibrelor conjunctive.

Cunoscînd aceste date generale, putem aborda studiul analitic al morfogenezei și al histogenezei regenerative a diferitelor organe externe la diferitele clase de vertebrate.

Regenerarea organelor externe la pești

Regenerarea tegumentului. Cercetările efectuate la teleosteeni (49), (63), (76), (98), (300), (464), (783), (825), (1047), (1434) au stabilit o serie de aspecte fundamentale.

Astfel, imediat după lezare, plaga se acoperă cu un transsudat fibrilar, provenit din sîngele și limfa care s-au revărsat din vasele lezate. Plasma se coagulează, formînd un schelet reticular fibrilar, în ochiurile căruia se găsesc celule sanguine și limfatice, particule musculare distruse și detritus provenit în urma distrugerii celulelor.

Obliterarea plăgii se face prin alunecarea și prin etalarea rapidă a celulelor epidermice de la marginea plăgii, celule care migrează concentric către centrul plăgii. În acest moment se constată o subțiere a țesutului epitelial din jurul plăgii datorită alungirii și migrării elementelor sale. Acest proces de epitelializare a plăgii este, într-un prim timp, un proces pur mecanic, realizat prin contracția și prin colabarea marginilor plăgii în urma pierderii

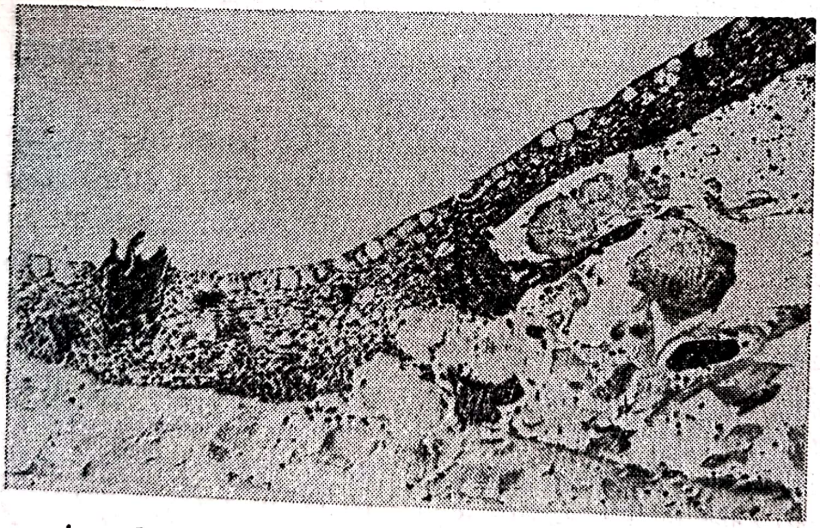


Fig. 4. — Regenerarea plăgii cutanate la teleosteeni (după Sauter).

masive de sînge și de limfă, deci un proces absolut pasiv. Al doilea timp al migrării celulelor epidermice este însă un proces activ, de deplasare activă a celulelor. Migrarea celulelor periferice către centrul plăgii nu se face însă compact, ci sub forma de șiruri celulare, fiecare șir de celule fiind precedat de celule izolate. Celulele acestor șiruri sînt puternic vacuolizate și îndepărtate între ele, fiind totuși legate prin anastomoze foarte fine. Printre aceste celule se găsesc frecvent leucocite, eritrocite și macrofage, celule mucoase, resturi musculare, resturi de corion etc. (fig. 4).

Scanned with OKEN Scanner

În momentul în care plaga este complet acoperită de epiderm, se constată că regeneratul epidermic este mai gros decît epidermul ce înconjură plaga. Acest regenerat este pluristratificat, centrul plăgii fiind constituit din 1—3 rînduri de celule, iar periferia, îngroşată puternic, din mai multe straturi de celule. Paralel cu acest proces se constată liza şi dispariţia tuturor elementelor neepidermice strecurate printre celulele epidermice, proces ce duce în final la o subţiere a epiteliului regenerat.

În urma unor procese de diviziune celulară, epiteliul începe să se îngroaşe din nou şi să se organizeze în trei straturi (fig. 5): a) un strat subţire superficial, în care celulele sînt compacte; b) un strat mijlociu foarte puţin dens, în care celulele dediferenţiate, dotate cu o mare mobilitate, sînt îndepărtate între ele prin vacuole şi spaţii libere, dar rămîn legate prin anastomoze foarte fine; c) un strat profund compact, subţire, care se formează pe seama celulelor bazale proliferative. Elementele celulare ale zonelor medie şi profundă se înmulţesc vădit şi se leagă între ele prin punţi citoplasmatice. În citoplasma unora din aceste celule apar granule, astfel încît celulele iau un aspect glandular. Cu timpul, zona profundă se lărgeşte şi înlocuieşte zona mijlocie.

S-a constatat astfel, la zvîrlugă, că activitatea mitotică începe în ziua a 3-a de la lezare în zonele superficială şi profundă ale epiteliului care înconjură plaga. Activitatea mitotică se întinde apoi treptat la regiunea regeneratului, unde mitozele apar în zilele 6—8 de la lezare, avînd aceeaşi localizare ca şi în epidermul din jurul regeneratului. În urma acestor procese începe diferenţierea regeneratului epidermic prin apariţia de celule mucoase, celule glandulare, corpusculi tactili etc. Procesul de diferenţiere a epidermului se termină, la zvîrlugă, în a 30-a — a 40-a zi de la lezare (76).

Concomitent cu diferenţierea elementelor epidermice, se constată formarea unui ţesut nou subepidermic. Sub noul epiderm se găseşte, mai întîi, un spaţiu umplut haotic de plasmă sanguină, celule sanguine şi celule muscu-

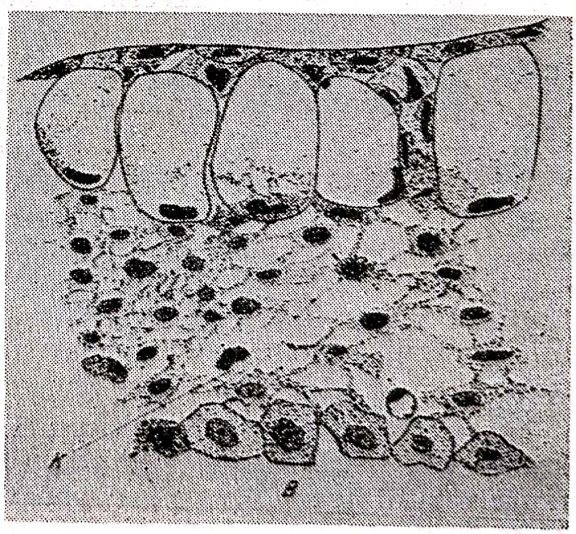


Fig. 5. — Cele trei straturi celulare ale epiteliului tînărului regenerat din plăgile cutanate la teleosteeni (după Sauter).

K, celulele zbîrcite ale stratului mijlociu; *B*, stratul celular bazal.

lare degenerate. Printre aceste celule, eritrocitele sînt majoritare, leucocitele în număr mai redus, iar limfocitele în număr şi mai redus. Se constată de asemenea existenţa unui anumit număr de macrofage, care au rolul de a fagocita toate celulele exsudatului amintit, permiţînd astfel îndepărtarea întregului reziduu prezent la acest nivel.

Scanned with OKEN Scanner

Paralel cu procesul de îndepărtare a detritusului, se constată o migrare la acest nivel a unor celule care provin din țesuturile vechi. Este vorba de niște fibrocite transformate, fusiforme, care au o plasmă granulară și un nucleu slab bazofil, prezentînd prelungiri citoplasmatice fine, anastomozate între ele. Sînt deci celule cu caractere mezenchimale. Ele apar ca niște elemente dediferențiate provenite din fibrocitele amintite, ivindu-se mai întîi în regiunile periferice și apoi în regiunile centrale ale plăgii. Aceste celule se divid intens, mai ales prin amitoză. Din ele vor lua naștere, prin diferențierea lor, țesutul conjunctiv subcutanat, corionul și solzii. Alături de celulele diferențiate apar un mare număr de fibrile. Cromatoforii apar foarte tîrziu (la zvîrlugă la 4 luni după lezare (76)), moment în care regenerarea poate fi considerată ca terminată.

Formarea țesutului subepidermic nu îmbracă nici forma tipică a blastemului de regenerare, nici pe cea a țesutului de granulație. S-ar putea spune că îmbracă mai degrabă caracterele primitive ale acestor două modalități de regenerare, apropiindu-se mai ales de țesutul de granulație. Aceasta pentru că cunoaște fenomene de dediferențiere, proprii blastemului de regenerare, dar și o geneză exclusivă din sursă conjunctivă (fără cicatrizare), proprie țesutului de granulație.

Cercetările au mai constatat că epitelializarea plăgii se face mult mai rapid decît regenerarea țesutului subepidermic. Se poate astfel spune că regenerarea tegumentului la pești apare pe socoteala epidermului care înconjură plaga. Acest regenerat este de la început pluristratificat, fapt ce deosebește histogeneza regenerativă de cea embrionară. Epitelializarea, mult mai accelerată decît regenerarea subepitelială, este o caracteristică ce nu se întîlnește la vertebratele superioare decît în cazul anumitor țesuturi, cum este corneea, care, găsindu-se în condiții de umezeală continuă, ar avea caractere comune cu regenerarea tegumentelor la pești (76).

Solzii regenerați au o origine pur mezodermică. Se constată că în țesutul conjunctiv lax, situat între corion și epiderm, se produce o aglomerare de celule regenerative, care se grupează în grămezi izolate. Aceste grupe de celule cresc prin amitoză și prin aport continuu de celule migratorii. În același timp, se constată turtirea acestor celule și separarea lor în două straturi, unul superficial și altul profund, între ele depunîndu-se substanța centrală a solzilor. La acest nivel, epidermul se înfundă, formînd o gropiță. Celulele care alcătuiesc cele două straturi se turtesc din ce în ce mai mult și se acolează intim de substanța centrală a solzilor. Stratul superficial va da naștere stratului hialodentinic al solzilor, iar stratul profund stratului fibrilar. La marginea solzilor rămîne un material de construcție pentru creșterea ulterioară a acestor formațiuni, creștere care începe imediat ce organizarea lor este terminată.

Se mai constată că procesul regenerativ al solzilor durează un timp îndelungat și că regenerarea este totală de-abia la un an după lezare. În unele cazuri, această regenerare poate chiar să nu aibă loc. Atunci însă cînd ea se produce, nu conduce aproape niciodată la o dispoziție ordonată, așa cum se întîlnește la animalul nelezat. Uneori iau naștere solzi giganți prin fuzionarea mai multor primordii între ele, alteori solzi suprapuși.

În cazul unei leziuni parțiale a solzilor se constată că sub partea conservată apare un solz nou, care se alipește cu timpul de solzul vechi, cu care alcătuiește o formațiune unitară.

Scanned with OKEN Scanner

Regenerarea înotătoarelor. Înotătoarele nu regenerează decît dacă lezarea lor este parțială și dacă mai rămîne pe loc o parte din înotătoarea veche (porțiunea bazală a radiilor dermice). În caz de extirpare totală a înotătoarelor, regenerarea nu are loc.

Regenerarea înotătoarei caudale la larva ciclostomului *Lampetra fluviatilis* apare ca un proces lent, în care nu are loc formare de blastem, țesuturile noi luînd naștere din cele vechi ale bontului. Mușchii nu regenerează și sînt înlocuiți prin țesut conjunctiv (726).

De asemenea, la teleosteeni (49), (63), (98), (300), (1104), procesul regenerativ constă doar din creșterea și diferențierea concomitentă a țesuturilor vechi păstrate pe loc. Extirparea totală a unor radii nu permite regenerarea lor. Timpul de regenerare este paralel cu cantitatea de țesut pierdut și cu poziția înotătoarelor. Astfel, înotătoarele cele mai necesare regenerează cel mai repede, ceea ce face ca înotătoarea caudală să regenereze în timpul cel mai scurt, urmată fiind de înotătoarele pectorale, abdominale, dorsale și anale (în ordinea amintită). La peștii mici, regenerarea are loc în $1-1^1/_2$ luni, pe cînd la peștii mari doar în 6 luni.

La *Gambusia* (1104), închiderea plăgii prin migrarea celulelor epiteliale are loc la 24 de ore de la injurie, fără intervenția mitozelor. Prin acțiunea macrofagelor începe îndepărtarea țesuturilor alterate. La 48 de ore de la lezare, plaga este acoperită de o membrană foarte fină, reprezentînd elementele regenerative (epiteliu și elemente conjunctive subepiteliale). Epiteliul regenerativ este constituit din mai multe pături de celule. Stratul său bazal prezintă numeroase mitoze. Țesutul conjunctiv subepidermic este format

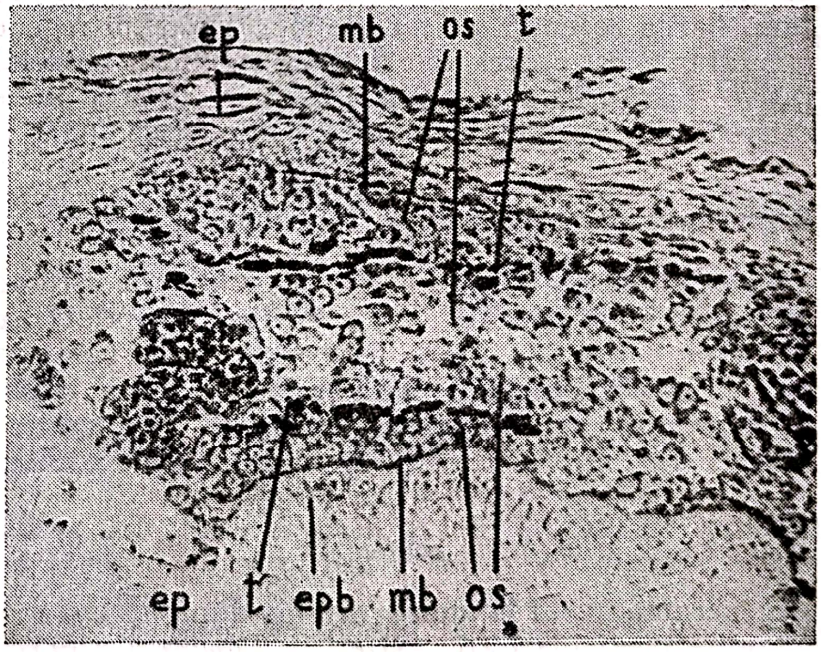


Fig. 6. — Regenerarea înotătoarei caudale la *Gambusia*, la nivelul aglomerării de osteoblaste care se vor dezvolta într-o radie osoasă (după Hollande și Mallory in Sichel).

ep, integument; *epb*, strat bazal; *mb*, membrană bazală; *os*, osteoblaste; *t*, trabecule nou formate.

din celule proliferative dediferențiate, cu nuclei foarte bazofili. Aceste celule constituie sursa fibrocitelor și a osteocitelor regeneratului. Regenerarea înotătoarei caudale este terminată la 20 de zile după lezare (fig. 6).

Regenerarea mustăților. Cercetările privind regenerarea mustăților la unii pești (395), (396), (939) au stabilit că aceasta nu are loc atunci cînd extir-

parea organelor este totală, ci numai dacă în urma lezării mai rămîne un mic mugure alcătuit din țesuturi vechi.

Ca și în regenerarea tegumentului, regenerarea mustăților este precedată de epitelializarea plăgii, care se face la fel, dar prezentînd unele caracteristici. Migrarea celulelor epiteliale ale marginii plăgii privește toate păturile epiteliului normal, cu excepția zonei superficiale a păturii mijlocii, alcătuită din celule puternic vacuolizate și îndepărtate între ele, zonă care nu participă la această migrare. De asemenea, corpusculii gustativi din epiteliul marginal al plăgii nu migrează într-un prim stadiu și nu participă la epitelializarea plăgii. Ulterior însă, acest epiteliu de acoperire este colonizat treptat de corpusculi gustativi, care sînt aduși din țesuturile vechi în urma unui proces continuu de migrare a vechiului epiteliu.

Sub epiteliu se constată o acumulare continuă de celule conjunctive dediferențiate, care, prin diferențiere, refac mai întîi țesutul colageno-elastic alipit de epiderm, precum și țesutul conjunctiv lax subiacent, iar apoi țesutul conjunctiv compact profund. În fine, are loc regenerarea cartilajului central și al nervilor care-l însoțesc, prin creșterea continuă a vechilor țesuturi.

Regenerarea operculelor nu are loc decît în urma leziunilor parțiale ale acestora. Regenerarea, care se face cu atît mai lent cu cît peștele este mai bătrîn și cu cît leziunea este mai extinsă, începe prin refacerea membranei operculare (după tipul regenerării epidermice a tegumentului) și apoi prin acumularea de celule conjunctive dediferențiate regenerative sub epiteliul regenerat, celule prin a căror diferențiere iau naștere țesuturile subepidermale, inclusiv oasele (63).

Regenerarea branhiilor nu are loc decît în urma lezării lor parțiale, viteza regenerării depinzînd de vîrsta peștelui, de mărimea leziunii și de anotimp (iarna regenerarea nu are loc). Epiteliul regenerativ joacă rolul fundamental în acest proces, dat fiind că stabilește modelul (mulajul) părții regenerative. Țesuturile subepiteliale iau naștere prin diferențierea celulelor regenerative dediferențiate, de origine conjunctivă (63).

Regenerarea organelor externe la amfibii

Facultatea de regenerare a organelor externe este prezentă la larvele tuturor speciilor de amfibii. La adulții lor însă, proprietatea de regenerare a organelor externe diferă la anure de urodele. Ea se păstrează toată viața la urodele, pe cînd la anure dispare odată cu metamorfoza, după care nu se mai păstrează decît proprietatea de regenerare a pielii. În anumite cazuri însă s-au raportat și regenerări atipice ale membrelor la anurele adulte.

Regenerarea la amfibiile adulte

Regenerarea pielii la anure are loc după același model ca și la pești, dar cu anumite particularități. Astfel, la *Bombinator* (937), epiteliul începe să prolifereze concentric către centrul plăgii, prin migrare, la 12 ore de la lezare. La 24 de ore de la lezare se constată proliferarea și migrarea paralelă a epiteliului și a țesutului conjunctiv lax subepidermic. La 72 de ore de la lezare, plaga este complet închisă prin epiteliu și prin țesutul conjunctiv lax subepidermic. Între aceste straturi începe să se infiltreze, pornind de la periferia plăgii, țesutul conjunctiv compact al corionului glandular. La 14 zile de la lezare,

Scanned with OKEN Scanner

plaga este complet refăcută, fiind prezente glandele, stratul melanofor și țesutul compact al corionului.

La *Rana* (77) se constată că epiteliul marginal se deplasează concentric către centrul plăgii, regeneratul epitelial, format din mai multe straturi de celule și însoțit de o îngroșare slabă și de o mărire a dimensiunilor celulelor sale plate, alunecînd activ pe dopul plasmatic care astupă plaga și care dispare pe măsură ce epiteliul înaintează. Ulterior, apare și o reacție mitotică a celulelor epiteliale, în special în apropierea canalelor glandulare, care sînt antrenate, prin părțile lor distale, odată cu migrarea epiteliului. Epiteliul regenerativ se deosebește însă mult de cel normal. Spațiile dintre celulele păturii sale mijlocii se lărgesc mult și celulele rămîn unite doar prin punți citoplasmatice. În această regiune se constată proliferarea, prin mitoze, a numeroase celule. La 3—5 zile de la lezare, plăgile mici sînt complet epitelializate. Plăgile mari sînt complet epitelializate doar la 9—11 zile de la lezare. După terminarea epitelializării, celulele epiteliale capătă o orientare și o formă proprie epiteliului normal, dar epiteliul regenerativ mai rămîne încă multă vreme deosebit de cel normal printr-un număr crescut de straturi celulare, prin grosimea sa, prin dimensiunile mai mari ale celulelor și nucleilor, ca și prin mărirea spațiilor intercelulare.

În același timp cu epitelializarea plăgii are loc înlocuirea pachetului plasmatic subepitelial prin formarea unui țesut conjunctiv tînăr, în care celulele se diferențiază în celule conjunctive adulte și în care se formează un strat celular cu fibre mai subțiri la suprafață și mai groase în adîncime. Din acest țesut iau naștere, prin diferențiere, țesuturile dermice, glandele și cromatoforii.

Anurele au o poziție intermediară între animalele acvatice și cele terestre. Ele păstrează de la animalele acvatice capacitatea regenerativă epitelială (deplasarea epiteliului pe pachetul de fibrină și epitelializarea fără crustă), iar de la animalele terestre absența aspectului turtit al epiteliului care înconjură plaga și apariția timpurie a activității mitotice.

Regenerarea membrelor la anurele adulte. Este, în general, acceptat că numai larvele de anure au putința de regenerare a membrelor. S-au semnalat totuși în stadiul postmetamorfotic la anure anumite regenerări atipice spontane ale membrelor amputate (389), (390), (650), (651), (895), (897), (1063), (1162).

Regenerarea membrelor în stadiul timpuriu postmetamorfotic sau chiar în stadiul adult a fost constatată la *Pipidae (Xenopus mülleri, X. laevis, Hymenochirus boettgeri)* și la *Discoglossidae (Bombina bombina, B. variegata, Discoglossus pictus)* (fig. 7—13). O incidență înaltă de regenerare a fost remarcată la *Bombina bombina* și la *Rana temporaria* (895), (897), precum și la *Hymenochirus boettgeri* (389). La toate aceste specii se constată *regenerări hipotipice*, formate, în special, din baghete de cartilaj bine dezvoltate, învelite de țesut conjunctiv și de piele. Blastemul este relativ difuz și redus în activitatea sa mitotică (651), (1063), (1162). Regenerarea mușchilor este minimă și constă doar în formarea de mici benzi musculare striate. Se constată o histoliză prelungită a oaselor și o profuziune caracteristică de osteoclaste în cursul dediferențierii. Toate regeneratele sînt deci deficiente din punct de vedere morfologic, prezentînd un blastem redus și o dezvoltare insuficientă a mușchilor; ele au doar o dezvoltare mare a cartilajului și a țesutului conjunctiv. Aceste imagini sînt similare la *Xenopus* și la *Hymenochirus* (390).

Scanned with OKEN Scanner

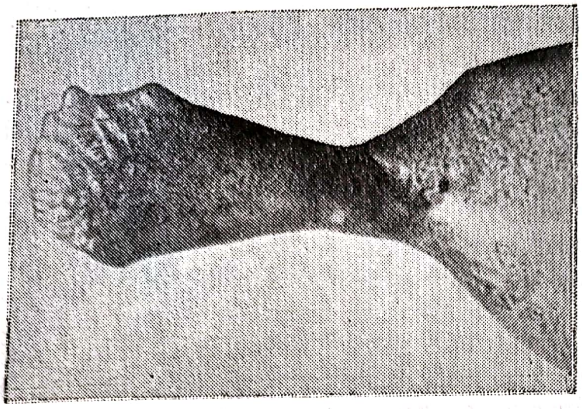


Fig. 7. — Regenerarea membrului posterior la adultul de *Xenopus* (după Goode).

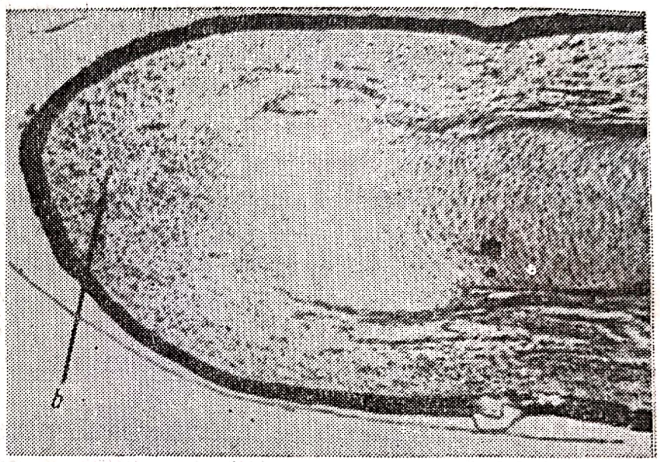


Fig. 8. — Partea distală a regeneratului de membru anterior al adultului de *Xenopus laevis* la 48 de ore după amputare (după Goode).

b, celule blastemale.

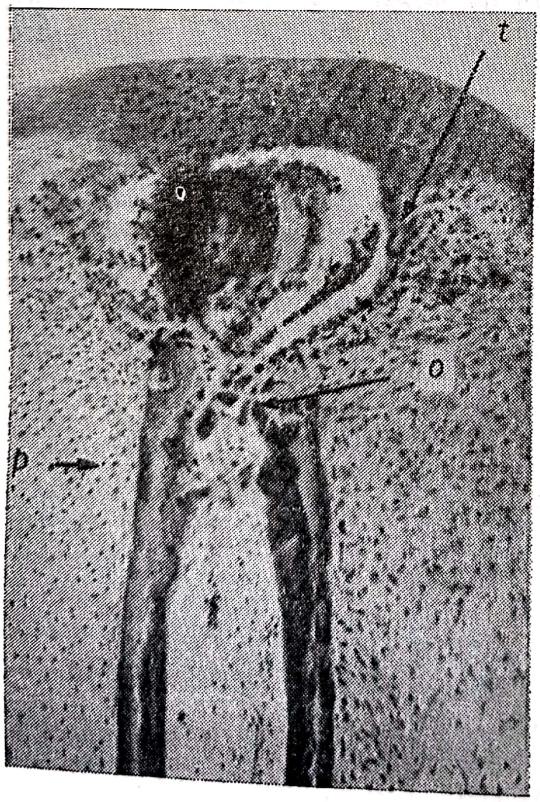


Fig. 9. — Regenerarea membrului anterior la *Bombina bombina* la 14 zile după amputare (după Goode).

o, osteoclast; *p*, cartilaj periosteal; *t*, limbă epidermală.

Scanned with OKEN Scanner

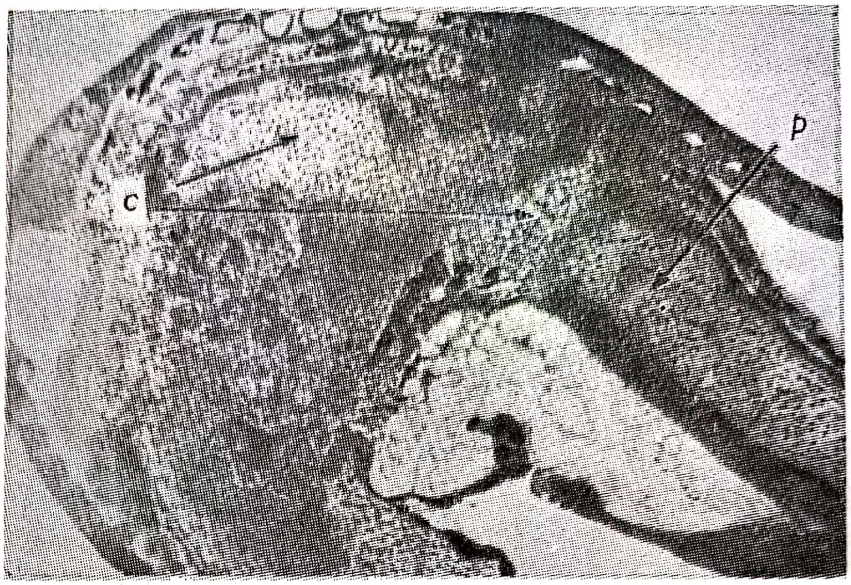


Fig. 10. — Regenerarea membrului anterior la *Discoglossus pictus* la 30 de zile după amputare (după Goode).

c, cartilaj; *p*, cartilaj periosteal.

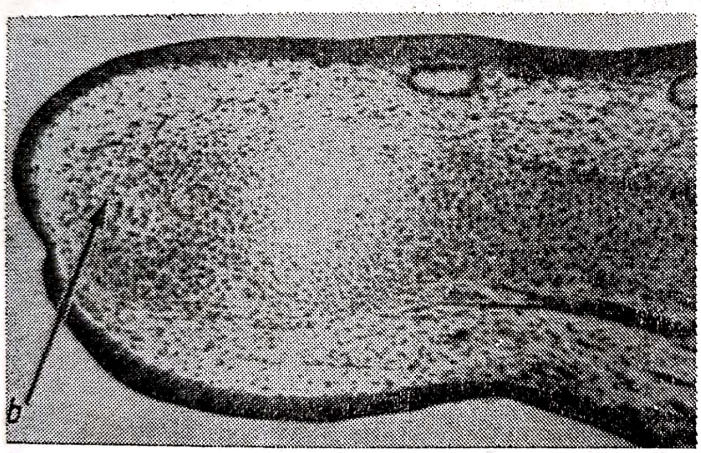


Fig. 11. — Regenerare la *Bombina bombina* la 56 de zile după amputare (după Goode).

b, celule blastemale.

Fig. 12. — Regenerarea membrului anterior al adultului la *Xenopus mülleri* la 25 de zile de la amputare (după Goode).

Scanned with OKEN Scanner

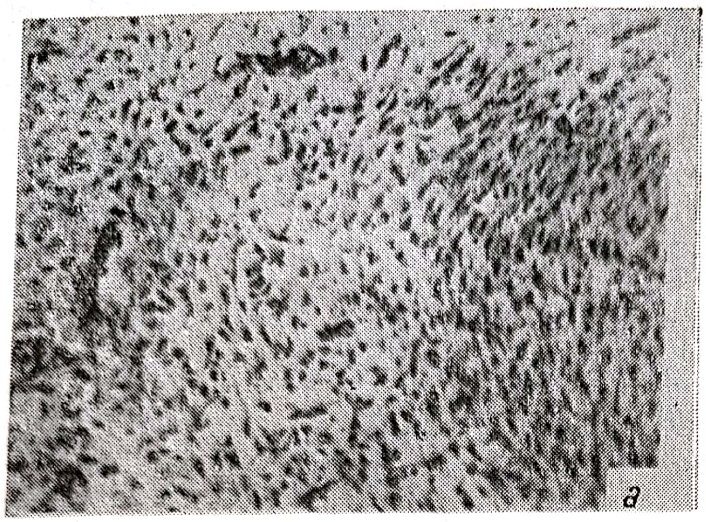
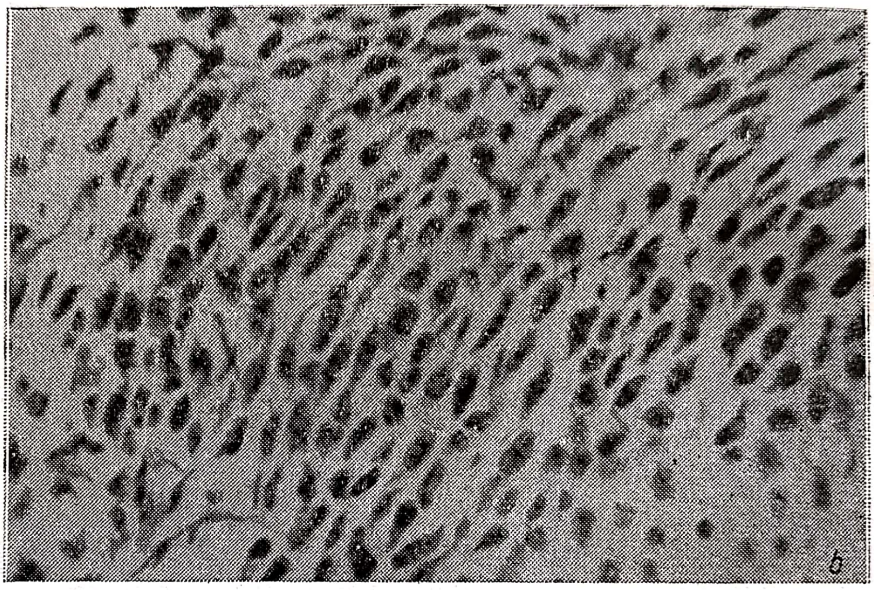


Fig. 13. — Blastemul membrului anterior regenerativ (după Goode): *a*, la *Xenopus laevis*; *b*, la *Bombina bombina*.



Regenerarea pielii la urodele se face ca și la pești și la anure. Diferite cercetări (191), (631), (968), (1336), (1369), (1410) au stabilit, în închiderea plăgilor cutanate la urodele, o etapă provizorie, în care plaga este acoperită de un dop plasmatic. În această fază de exsudat se constată fenomene de citoliză a celulelor angrenate în dopul plasmatic. Urmează apoi o etapă primară de proliferare celulară, neoformare și acumulare de material tisular la nivelul plăgii. În această etapă, plaga se închide prin migrarea tuturor straturilor epiteliului marginal către centrul plăgii, migrare care se face prin deplasare activă și prin alunecare pe substrat. În urma migrării epiteliului se constată și migrarea fibroblastelor marginale, celule cu care începe o activitate mitotică (la salamandră la 24 de ore după lezare, atingînd maximul la 10 zile), și formarea de fibre. Se produce astfel un țesut conjunctiv subepitelial, ale cărui straturi de fibre superficiale se aglomerează într-o lamelă marginală. Urmează, în fine, migrarea de celule melanofore coriale de la margine spre centrul plăgii. A treia fază în regenerarea pielii la urodele este cea a etapei secundare, cînd are loc o reconstrucție gradată a regeneratului spre o piele normală. La salamandră, activitatea mitotică încetează în a 3-a săptămînă și cu aceasta regenerarea este terminată.

Scanned with OKEN Scanner

Regenerarea membrelor la urodelele adulte. Numeroși autori (1), (92), (94), (95), (96), (100), (104), (150), (160), (163), (185), (186), (206), (238), (249), (338), (347), (364), (385), (400), (433), (443), (481), (483), (484), (490), (494), (498), (531), (537), (540), (582), (608), (688), (764), (767), (819), (822), (844), (845), (846), (900), (938), (943), (1014), (1040), (1041), (1042), (1065), (1074),

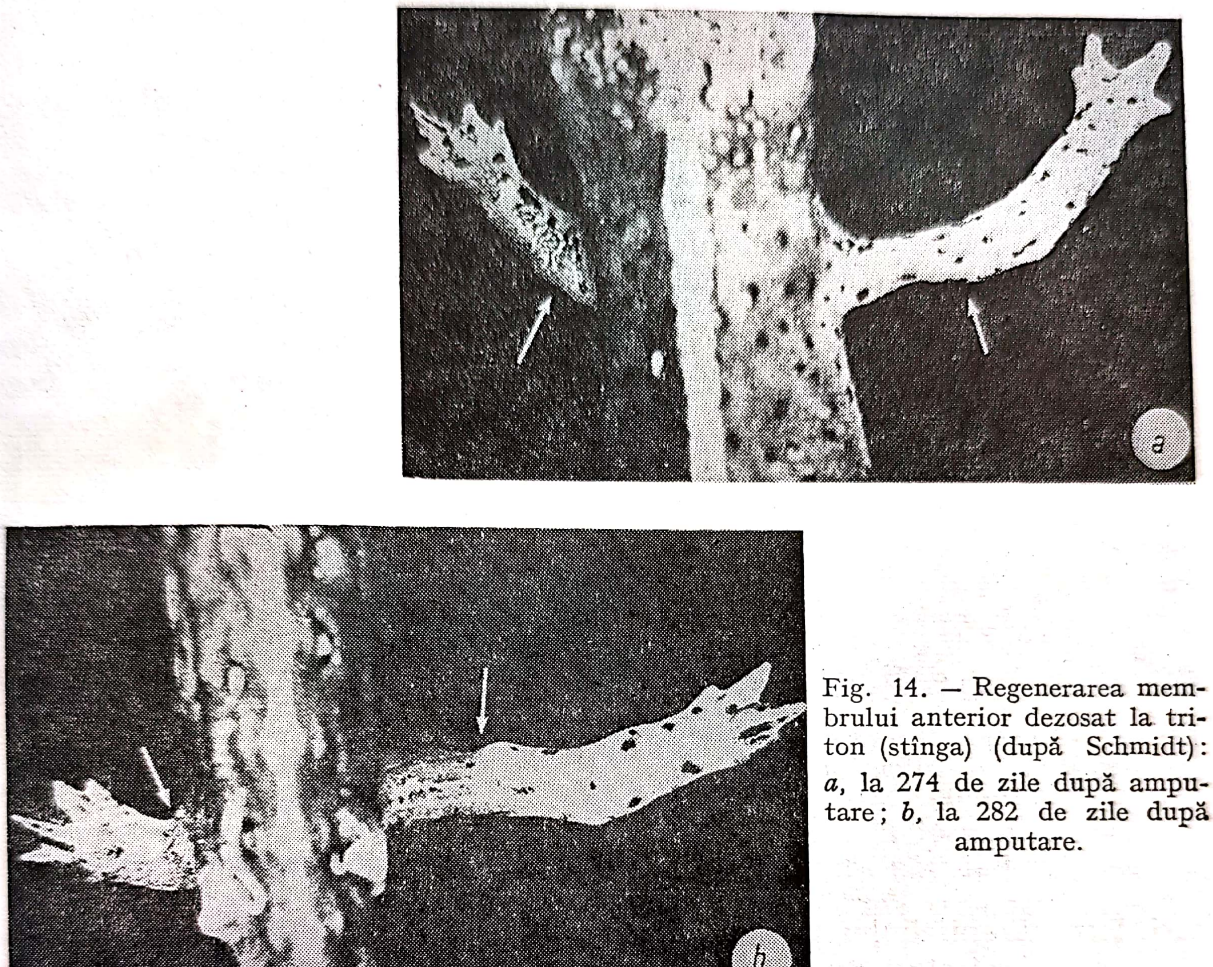


Fig. 14. — Regenerarea membrului anterior dezosat la triton (stînga) (după Schmidt): *a*, la 274 de zile după amputare; *b*, la 282 de zile după amputare.

(1129), (1132), (1143), (1151), (1206), (1207), (1231), (1249), (1257), (1259), (1260), (1262), (1263), (1341), (1354), (1375) au descris fenomenele morfohistologice în cursul regenerării membrelor la amfibiile urodele adulte. Ei au stabilit că această regenerare se face prin apariția unui blastem de regenerare tipic, format prin epimorfoză, mult mai complicat decît cel care apare în regenerarea pielii la amfibii, în regenerarea tegumentului sau a organelor externe la pești (fig. 14).

La urodele, regenerarea membrelor se face cu o viteză diferită după specie, la *Proteus* și la *Necturus* fiind foarte lentă. Ea constă în refacerea tipică a membrului, avînd un schelet normal, numărul degetelor fiind însă inferior sau superior numărului normal de degete.

La triton, faza de epitelializare și de restructurare a epiteliului apical durează de la 1—28 de zile după amputare (104), (163), (185), (186), (688), (1074), (1132). Epitelializarea este completă la 24 de ore, epiteliul fiind constituit din 3—8 straturi de celule. La 48 de ore de la amputare, epiteliul se îngroașă la

Scanned with OKEN Scanner

6—8 straturi prin proliferarea mitotică a celulelor sale. Între 10 și 20 de zile de la amputare, el devine și mai gros (8—15 straturi de celule), constituind așa-numita *scufiță apicală*, care contrastează cu epiteliul normal de la marginea plăgii, format doar din 3—4 straturi de celule. În fine, între 20 și 28 de zile se constată o diminuare a numărului straturilor celulare, care revin la 5 pă-

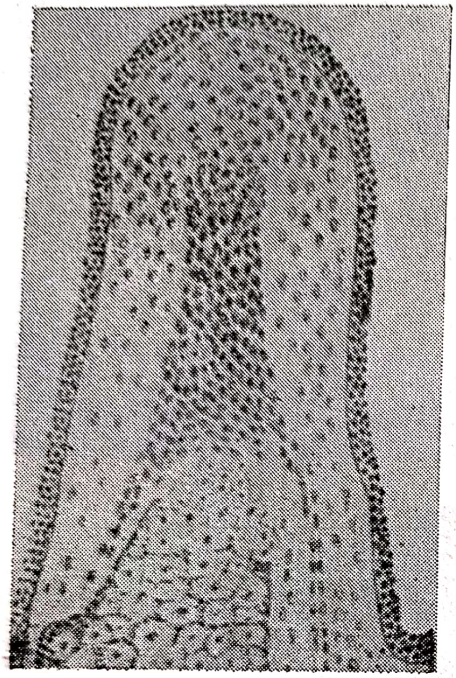


Fig. 15. — Mugurele de regenerare al membrului de triton (după Törö).

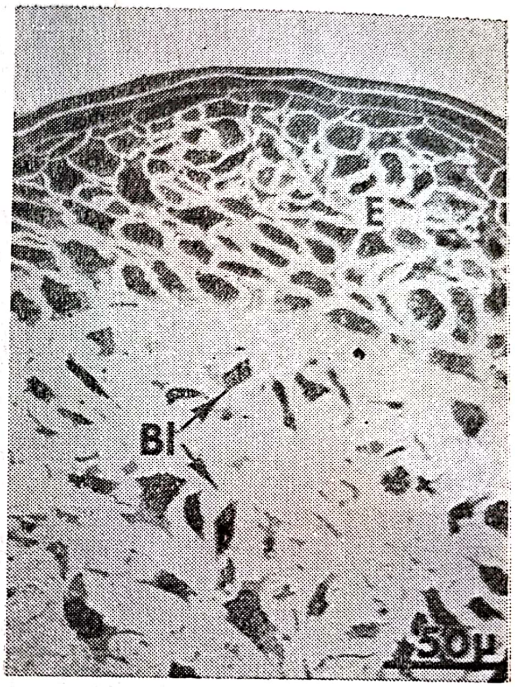


Fig. 16. — Regenerat în stadiul timpuriu al membrului anterior de triton. Imagine la microscopul optic (după Bryant, Fyfe și Singer).
E, epiderm; *Bl*, celule blastemale bazofile.

turi. Păturile epiteliului înglobează, în stadiul său de îngroșare, chisturi conținînd deșeuri colectate din blastem (1042), (1146), (1151), (1260) (fig. 15 și 16).

La microscopul electronic se constată diferențe notabile între epiteliul normal și cel regenerativ, ultimul fiind de tip cisternal de reticul endoplasmatic. Celulele bazale au o zonă corticală largă, lipsită de reticul și de mitocondrii (1151). Celulele epiteliului sînt legate între ele prin contacte desmosomale. Există însă spații intercelulare largi, în care se găsesc celule pigmentare și fagocitare, vacuolele fagocitare conținînd deșeuri și mănunchiuri de colagen (150), (1151).

Unele experiențe (95), (96), (100), (490), (531), (943), (1014), (1151), (1249) au demonstrat proprietatea fagocitară a epiteliului, care ar avea rolul de a elimina resturile celulare și elementele celulare degradate. S-a constatat astfel existența unui curent ferm de trecere de material, în stadiile timpurii ale regenerării, de la țesuturile bontului la epiderm, ultimul avînd rolul de a excreta acest material degradat la exterior.

În stadiile tinere ale regenerării se constată absența membranei bazale dintre epiteliu și celulele subiacente, precum și faptul că *membrana adepidermală* este indistinctă și discontinuă (lacunară), ceea ce permite contacte directe între epiderm și țesuturile subiacente (150), (1042), (1146).

În țesutul subepidermic se constată, în prima săptămînă, o invazie a plăgii prin celule inflamatorii, procese de histoliză și apoi dezvoltarea țesutului blastemic. La începutul celei de-a doua săptămîni, histoliza subepidermică este încă puternică (1065), dar celulele mezenchimatoase dediferențiate, provenite din dediferențierea țesuturilor bontului, se acumulează sub scufița apicală, formînd blastemul. Faza de dediferențiere are loc la triton între 5 și 10 zile de la lezare (194), iar blastemul începe să se formeze după 8—10 zile (104). La sfîrșitul celei de-a doua săptămîni (9—12 zile) se constată acumularea celulelor blastemale pentru a forma un mugure precoce (1132). În acest stadiu, regeneratul constă dintr-o cantitate redusă de țesut, acoperită de scufița apicală epidermică. Histoliza țesuturilor proximale plăgii este avansată și numeroase celule blastemale se acumulează sub epiteliu. Aria plăgii este edematoasă, iar rata mitotică a celulelor blastemale este încă redusă (1143). Privite la microscopul optic, celulele blastemale sînt mai degrabă uniforme, prezentînd prelungiri citoplasmatice lungi și o citoplasmă bazofilă. Se constată absența membranei bazale de separare între epiteliu și blastem, precum și discontinuitatea membranei adepidermale (150), (1042), (1146) (fig. 17—19). La microscopul electronic se constată existența mai multor tipuri de celule, și anume: a) *celule blastemale comune* (fig. 20 și 21), care predomină ca număr (60—90%) și prezintă prelungiri reduse ce au contacte doar ocazional (822), (1040), un nucleu mare central, care conține blocuri de cromatină, și un fond dens de granule cu diametrul de 500 Å. Se mai constată o concentrare a reticulului endoplasmatic rugos și aglomerarea membranelor reticulului. Cisternele conțin un material dens, iar citoplasma prezintă și picături de lipide; b) *celule fagocitare* (4—15%), cu prelungiri lungi filopodiale și cu numeroase vacuole fagice (fig. 22). Acestea par a fi celule Schwann, derivate prin migrare din capetele nervilor secționați în cursul amputării. Cum aceste celule nu-și schimbă niciodată numărul (nici chiar după denervarea membrului), este posibil ca ele să nu participe la formarea regeneratului propriu-zis, ci doar la formarea noilor axoni care pătrund în regenerat sau la fagocitarea materialului celular provenit în urma traumei amputării (150); c) *celule palide* și *celule vacuolare*, în cantitate foarte redusă. În afară de aceste celule, se mai găsesc mănunchiuri de mici axoni regenerativi lipsiți de teacă, care stabilesc contacte cu celulele blastemale (1040) și pătrund în epiderm (150), (484), (1040), (1129). Este posibil ca celulele palide și cele vacuolare să provină din celulele blastemale comune (150).

Celulele subepiteliale au unele caractere care lipsesc celulelor epiteliale, și anume: a) pierderea produșilor specializați intra- și extracelulari, care se formează în cursul diferențierii celulare; b) mărirea nucleilor și a nucleolilor, cu creșterea concomitentă a raportului nucleo-citoplasmatic (104), (160), (238), (483), (484), (1042), (1249).

Această fază este urmată de o proliferare rapidă a elementelor blastemului (1143), stadiu care se întinde între a 13-a și a 21-a zi după amputare și care se exprimă prin apariția mugurelui regenerativ de formă bulbară (19 zile). La axolotl, creșterea este mult mai pronunțată, în stadiile timpurii, în părțile distale față de cele proximale ale blastemului (304).

Faza de diferențiere începe în ziua a 21-a (104). Histogeneza se manifestă, în regenerarea membrelor la triton, mai întîi sub forma diferențierii elementelor cartilaginoase și apoi a celorlalte elemente, diferențierea cartilajului precedînd pe cea a mușchilor. Ea se exprimă prin apariția mugurelui de formă

Scanned with OKEN Scanner

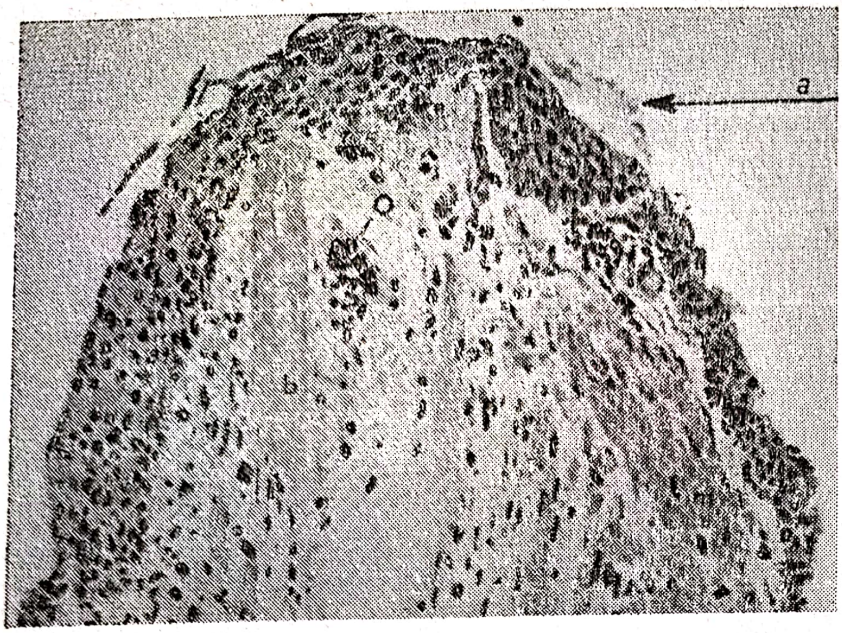


Fig. 17. — Regenerat de membru de triton la 7 zile după amputare (după Anton).

a, suprafața de amputare; *o*, osteoclast; *b*, os.

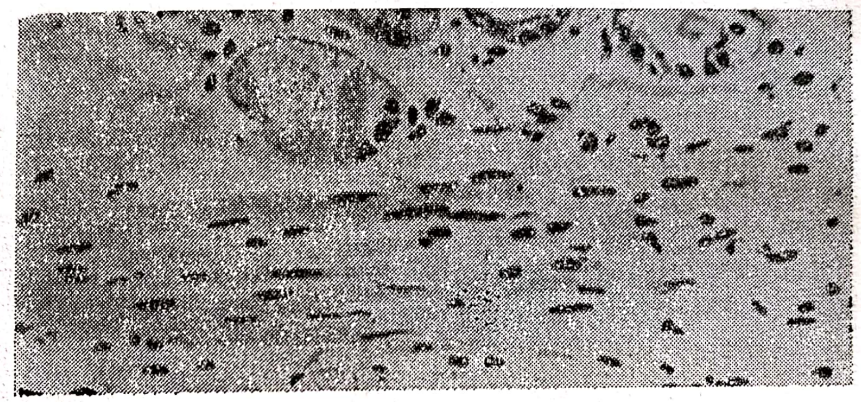


Fig. 18. — Mușchii striați la 7 zile după amputare (după Anton).

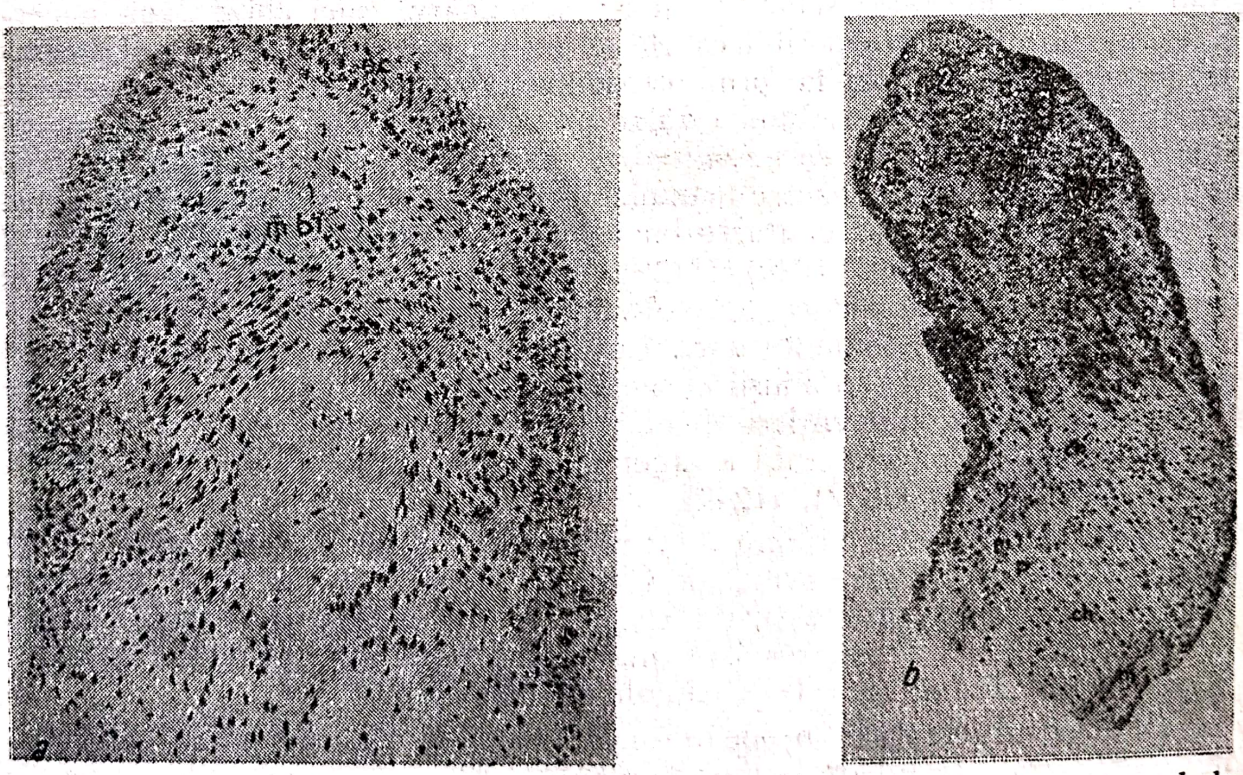


Fig. 19. — Regenerat de membru de triton (după Anton): *a*, la 17 zile de la amputare; *b*, la 25 de zile de la amputare:

ch, condrocite ale scheletului regenerativ; *m*, mușchi în regenerare; *p*, periost; *1—4*, fibre colagene.

Scanned with OKEN Scanner

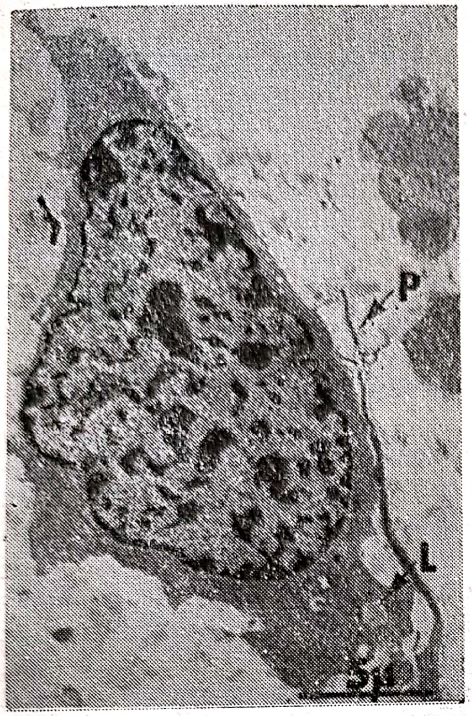


Fig. 20. — Electronomicroscopie a unei celule blastemale comune de la un regenerat din stadiul timpuriu. Citoplasma conține un reticul endoplasmatic rugos extensiv (după Bryant, Fyfe și Singer).

P, proces citoplasmatic, la suprafața celulei, provenind din celula blastemală vecină; *L*, picătură lipidică.

Fig. 21. — Electronomicroscopie a unei celule blastemale comune de la un regenerat din stadiul timpuriu (după Bryant, Fyfe și Singer).

M, mitocondrii; *N*, nucleu.

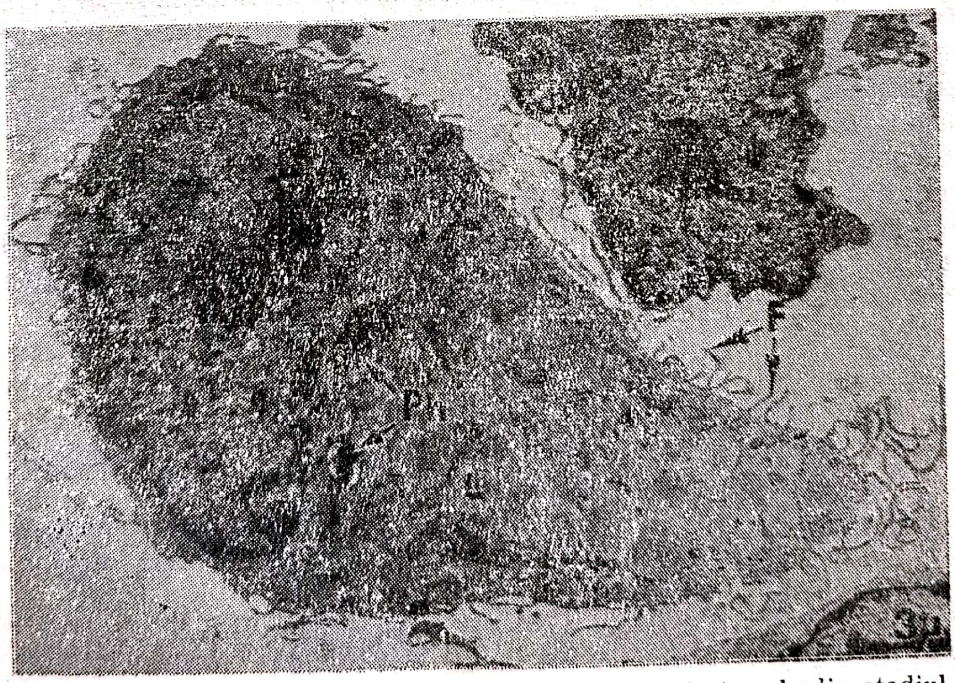


Fig. 22. — Electronomicroscopie a unui fagocit blastemal din stadiul timpuriu al unui regenerat. Filipodii la suprafața celulei (după Bryant, Fyfe și Singer).

F, filipodii; *L*, picătură lipidică; *Ph*, vacuolă fagică.

Scanned with OKEN Scanner

conică la 3 săptămîni (25 zile). În săptămîna a 4-a are loc formarea cotului și a paletei digitale, în care diferențierea tisulară este foarte avansată, pentru ca în săptămîna a 5-a să se formeze degetele (150), (1065), (1132).

La *Ambystoma punctatum* și *A. opacum*, faza de dediferențiere are loc între 3 și 5 zile după lezare (582). Blastemul apare după 4—5 zile, moment în care se condensează și se separă de mezenchimul subiacent.

Regenerarea cozii la urodelele adulte a fost studiată de diverși cercetători (206), (279), (376), (454), (509), (942), (1189), care au stabilit că această regenerare este oarecum diferită de cea a membrelor, efectuîndu-se atît prin epimorfoză, cît și prin morfalaxă (1316). Regeneratele provenind din țesuturile cozii sînt oarecum diferite de cele ale membrelor în ceea ce privește formarea scheletului și a cartilajului lor (376).

Referitor la regenerarea cozii la urodele, cercetările noastre (938) asupra regenerării cozii la triton au evidențiat că, la 2 ore de la amputare, plaga este acoperită de un dop plasmatic. Pe linia mediană a bontului se constată existența unei travee conjunctive centrale, care conține un mare număr de fibroblaste; aceasta se separă, la nivelul plăgii, în două travee terminale, formate din detritus provenit din dezagregarea celulară. La 4 ore după amputare, se constată separarea și migrarea celulelor epiteliale bazale de pe fața profundă a epiteliului lateral către centrul plăgii. De-a lungul traveei centrale se observă un flux abundent de fibroblaste, care migrează către plagă. În fine, în fibrele musculare secționate, adiacente plăgii, are loc o explozie a nucleilor. La 8 ore după amputare, se constată o alunecare a celulelor epiteliale laterale către centrul plăgii, fapt ce are drept consecință o subțiere a epiteliilor laterale. La 10 ore de la amputare, capetele epidermice se apropie între ele, iar migrarea celulelor epiteliale este mai accentuată. Sub epiteliu se constată o acumulare intensă de fibroblaste. La 14 ore după amputare, celulele epiteliale migrate se ating între ele, iar fibroblastele subiacente încep să prolifereze pentru a forma un corion. La 16 ore de la amputare, capetele epidermice sînt complet reunite și plaga este complet epitelializată. La 20 de ore de la amputare, se formează un mugure regenerativ, prevăzut cu un epiteliu format din 8—10 straturi de celule și un corion provenit din proliferarea fibroblastelor subiacente. La 48 de ore se constată creșterea mugurelui epitelial și îngroșarea stratului conjunctiv subepitelial. La 4 zile după amputare are loc o separare netă a epidermului de corion, iar la 7 zile alăturarea limitantelor pigmentare, moment în care începe, cu țesutul cartilaginos, diferențierea țesuturilor subepidermice.

În regenerat pătrund numeroase vase sanguine, care suferă modificări dinamice: unele vase se unesc între ele, altele se atrofiază. Numărul vaselor este inițial mare; apoi, el diminuează în favoarea unei artere branhiale și a 1—2 vene care se deschid în canalul Cuvier. În final, vasele sînt distribuite asemănător celor din membrul normal, cu mici abateri.

Se pare că între blastem și țesuturile vechi există o barieră, de natură necunoscută, care ar împiedica un anumit timp pătrunderea vaselor de sînge în blastem (860).

Regenerarea la mormolocii de amfibii

Regenerarea epidermului la mormolocii urodelelor (*Triturus, Necturus* (303), (455)). S-a observat că la mormolocii de triton alpin, în vîrstă de 2—3 luni, suprafața plăgilor epidermice se acoperă cu celule care provin, prin deplasare,

Scanned with OKEN Scanner

din epidermul învecinat, precum și cu celule Leydig (celule mucoase epidermale), care migrează și se deplasează către zona centrală a plăgii. Epitelializarea este terminată la 24 de ore de la lezare. Țesuturile subepidermice se constituie ca la urodelele adulte (303).

Regenerarea membrelor și a cozii la mormolocii anurelor. S-au efectuat cercetări asupra regenerării extremităților la mormolocii de *Rana temporaria*

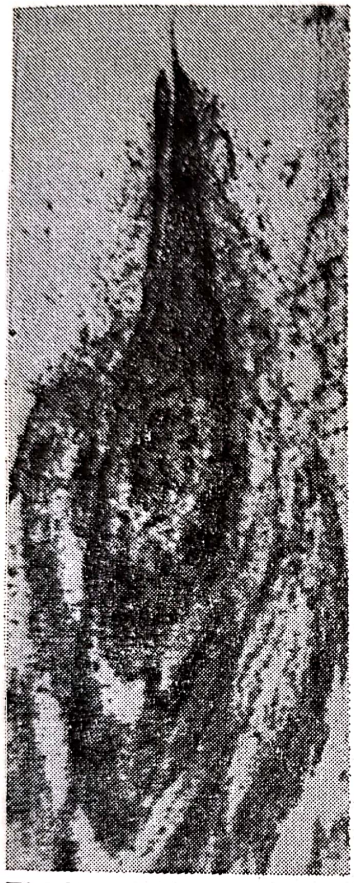


Fig. 23. — Regenerarea cozii la mormolocul de *Rana temporaria* la 11 zile după amputare (după Roguski).

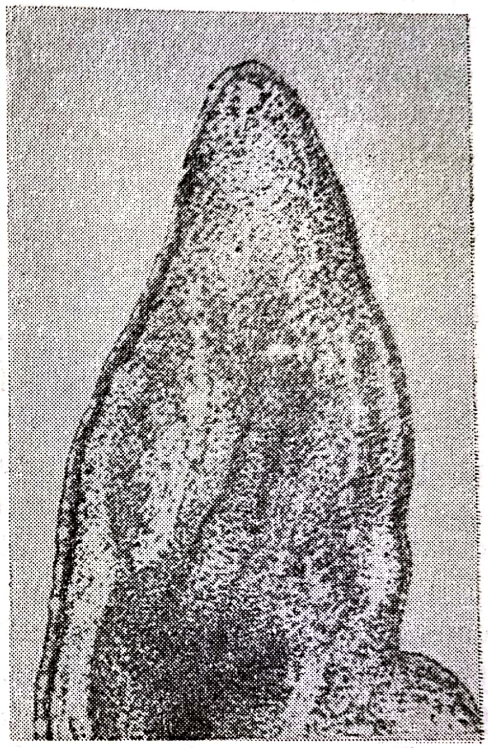


Fig. 24. — Regenerarea membrului anterior la larva de *Xenopus* la 10 zile de la amputare. Membru amputat în stadiul I-a (după Komala).

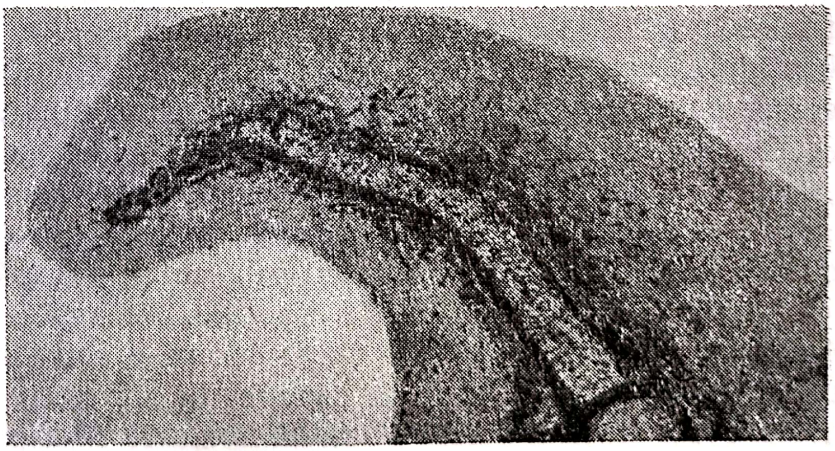


Fig. 25. — Regenerarea cozii la mormolocul de *Xenopus laevis* la 10 zile de la amputare (după Roguski).

(fig. 23), *Rana esculenta* și *Bufo vulgaris* (524), (800), (801), *Rana pipiens* (1245), *Xenopus laevis* (579), (704), (705), (706), (801), (1036), (1181) (fig. 24 și 25) și *Alytes obstetricans* (650) și s-a constatat că, dacă în mod obișnuit

Scanned with OKEN Scanner

regenerarea membrelor nu are loc la amfibiile anure adulte, ea este prezentă la mormolocii acestora, la care se desfășoară prin formarea de blastem tipic la majoritatea speciilor. La *Rana pipiens*, regenerarea membrelor este tot mai rapidă pînă în stadiul 13 Taylor, după care, începînd cu stadiul 14, proprietatea de regenerare se pierde (1245). Mormolocii de *Alytes* nu formează, contrar celorlalte anure, un blastem de regenerare după amputarea membrelor lor posterioare, în urma amputării dezvoltîndu-se doar o masă de țesut conjunctiv la nivelul capătului secționat al scheletului. În cazurile cele mai favorabile, acest țesut poate da naștere unei forme asemănătoare unui condil cartilaginos (650).

Este dealtfel constatat că în momentul formării degetelor se pierde capacitatea de regenerare la toți mormolocii de anure.

Regenerarea cozii la larvele de anure se face *tisularo-specific*, ceea ce înseamnă că fiecare component tisular al bontului cozii pune la dispoziția regeneratului propriul său material, care va da naștere, în regenerat, doar țesutului respectiv. În acest fel apare o deosebire fundamentală între regenerarea cozii la larvele de anure și la cele de urodele, ca dealtfel și la animalele adulte. La urodele se constată un blastem comun de celule dediferențiate, care provin din țesuturile bontului și din care se realizează, prin diferențiere, organele regeneratului (475), (597), (643), (704), (705), (800), (801), (803).

Naville, care a lucrat pe larvele de *Rana temporaria* (800), (801), consideră că proliferarea celulară se face doar la nivelul țesuturilor bontului, pentru ca apoi celulele diferențiate provenite din această proliferare să migreze sub epiteliu, fără dediferențiere prealabilă și fără mitoze consecutive, pentru a da naștere organelor diferențiate ale regeneratului. Speidel a demonstrat pe diferite specii de larve de anure (1938, citat după (475)) că numai celulele musculare ale bontului se dediferențiază.

Lüscher, experimentînd pe larvele de *Xenopus* (704), (705), (706), consideră că atît celulele cordale, cît și cele musculare se dediferențiază în prima fază a regenerării caudale.

În fine, Hauser (475) susține că la *Xenopus* se constituie blasteme tisular-specifice, fiecare din acestea provenind din țesuturile respective ale bontului. După acest autor, nu ar exista dediferențieri ale celulelor cordale, ci numai dediferențieri și redediferențieri de celule musculare. Hauser stabilește, la *Xenopus*, că reacoperirea plăgii de către epidermul neoformat prin migrare este terminată la 24 de ore de la lezare. Ulterior s-ar produce obliterarea măduvei spinării și s-ar restabili coarda dorsală, sub care s-ar acumula celule cu nuclei mari, cromatici, migrînd sub scufița apicală pentru a forma o sferă subepitelială de blastem tisular specific. Această sferă s-ar forma pînă la 4 zile după lezare. În ziua a 4-a ar începe o activitate mitotică puternică a celulelor subepiteliale, care ar conduce la o creștere rapidă a regeneratului; această activitate ar începe să scadă în ziua a 10-a și ar trece la rata de creștere normală între zilele 15 și 20. Creșterea prin activitate mitotică ar dura astfel 4—20 de zile. Diferențierea este însă precoce, întrucît începe de la 5—6 zile, și se face de la bază spre vîrful regeneratului. Amputarea cozii la mormo-

Scanned with OKEN Scanner

locii de *Xenopus* în stadiile 52—53 (NIEWKOOP-FABER) produce o considerabilă creștere a activității mitotice în celulele epiteliale ale înotătoarelor caudale, activitate care atinge maximul la 3 zile după amputare și scade la normal în ziua a 5-a (1181).

Regenerarea branhiilor la mormolocii amfibiilor anure. S-a constatat că branhiile externe sînt capabile de regenerare atunci cînd sînt secționate timpuriu (MERKEL, 1925, FELDOTTO, 1926, citați după (1)).

Regenerarea membrelor la mormolocii de urodele. La mormolocii de triton (455) se constată că, la 12 ore după amputare, suprafața plăgii se acoperă de un epiteliu, care se întinde progresiv spre centru, epitelializarea efectuîndu-se prin migrație celulară. O parte din celulele stratului superficial al epiteliului, precum și celulele Leydig se dediferențiază și, părăsind vechile lor poziții din epiteliul marginal, se tîrăsc pentru a acoperi plaga. În urma acestui proces, epiteliul marginal se subțiază. Între a 8-a și a 15-a zi apar mitoze în masă, mai întîi la nivelul marginii epiteliului regenerat și apoi spre centrul plăgii; mitozele sînt prezente în toate păturile epiteliale.

În țesuturile subepidermice se constată sporirea celulelor sanguine, fragmentarea unor elemente musculare și dezagregarea scheletului cartilaginos. În ziua a 3-a după amputare, mugurele de regenerare este format din celule blastemale dediferențiate provenite prin dediferențierea celulelor cartilaginoase, osoase, musculare, conjunctive și a celulelor Leydig, care au migrat din epiteliu. Mugurele de regenerare începe să crească în ziua a 5-a. În a 7-a zi de la amputare se formează un con de regenerare, în care apar primele condrocite și în care partea distală este constituită dintr-o aglomerare de celule blastemale într-o coloană centrală. O parte din aceste celule se grupează pentru a forma primordii musculare. După 9—10 zile de la amputare, conul de regenerare începe să se diferențieze.

Regenerarea membrelor la mormolocii de *Ambystoma* se face după același model. Cercetările efectuate la acești mormoloci au dat însă unele detalii privind miogeneza și condrogeneza. S-a constatat astfel că condrogeneza este foarte timpurie, poate chiar înainte ca celulele blastemale să se acumuleze distal (879). Condrogeneza ar fi legată de rolul posibil al osteoclastelor în histoliza prelungită a oaselor (390), (531). Această supoziție este confirmată și de observațiile făcute la urodelele adulte (238), (498), (1063), precum și de cele efectuate în cazul regenerării atipice a anurelor (338), (390). Se pare că histoliza prelungită a oaselor și profuziunea de osteoclaste sînt procese caracteristice în decursul dediferențierii și că aceste osteoclaste ar avea un rol deosebit în formarea cartilajului regenerativ. De aici s-a tras concluzia că, în regenerarea membrelor la urodele, cartilajul ar proveni din trei surse majore: a) o sursă periostală, care este cea mai timpurie; b) din celulele proximale ale osului în urma acțiunii histiolitice a osteoclastelor, celule care ar dezvolta centre condrogenetice; c) cea mai importantă sursă ar fi celulele dediferențiate ale blastemului (390), (481).

Miogeneza regeneratului își are originea în fibrele capetelor terminale ale mușchilor bontului. La acest nivel se produce mai întîi o sarcoliză (în sta-

Scanned with OKEN Scanner

diile timpurii ale regenerării) cu păstrarea nucleilor celulari și apoi o dediferențiere musculară completă a miofibrilelor, precum și migrarea acestor celule, care vor participa la formarea blastemului (104), (483), (1249). Fenomenele sînt identice cu cele care se petrec la urodelele adulte, de exemplu salamandră și triton (717), (767), (1064), (1065).

Fig. 26. — Regenerarea cozii la mormoloccul de *Ambystoma* la 11 zile de la amputare (după Roguski).

Coada mormolocilor de urodele regenerează diferit față de coada mormolocilor de anure (704), (1006) (fig. 26). În timp ce la anure regenerează toate organele prezente la nivelul suprafeței de amputare, ceea ce face ca coarda dorsală să regenereze și, prin alungirea ei, să alungească întregul regenerat (704), (784), (801), la urodele coarda dorsală nu se reface, regenerînd doar scheletul vertebral în întregime cartilaginos (115), (512), (513). Coada mormolocilor de triton regenerează de asemenea, spre deosebire de cea a anurelor, prin formare de blastem tipic (390), (454), (1160).

Regenerarea branhiilor la mormolocii de urodele. Branhiile sînt capabile de regenerare chiar atunci cînd sînt complet dezvoltate (Eycleshymer, 1906, Wurmbach, 1926, Villas, 1929, citați după (1)).

Regenerarea maxilarelor la mormolocii de triton este posibilă dacă secțiunea nu depășește nivelul lobilor olfactivi ai creierului (Von Szüts, 1914, Vallette, 1929, citați după (1)).

Regenerarea organelor externe la reptile

Facultatea de regenerare a organelor externe (coadă, membre, maxilar) este mai redusă la reptile decît la urodele și privește, în special, regenerarea cozii. Cercetările privind această problemă au fost efectuate pe numeroase reptile, cum sînt chelonienii *(Testudo, Emys)* (939) și saurienii *(Gecko, Sphenodon, Pygopus, Hemidactylus, Sphaerodactylus, Lygosoma laterale, Ablepharus pannonicus, A. deserti, Liolaemus, Anolis carolinensis* și *Lacerta)* (53), (442), (499), (519), (575), (615), (616), (617), (931), (939), (960), (961), (1118), (1119), (1120), (1168), (1307), (1311), (1431).

Regenerarea cozii poate avea loc în urma unei amputații fie spontane (*autotomie*), fie accidentale. Astfel, *Lacerta* și alte șopîrle pot pierde coada în urma sau a unei contracții active a mușchilor cozii (autotomie), sau a unei rupturi pasive prin factori mecanici. Autotomia se poate realiza grație faptului că aceste șopîrle posedă o serie de planuri vertebrale de fractură.

Scanned with OKEN Scanner

Regenerarea cozii autotomizate la *Lacerta* tînără sau adultă se face în dreptul amputării ce are loc la nivelul unui plan intravertebral sau intervertebral și devine evidentă după 2—3 săptămîni (fig. 27 și 28).

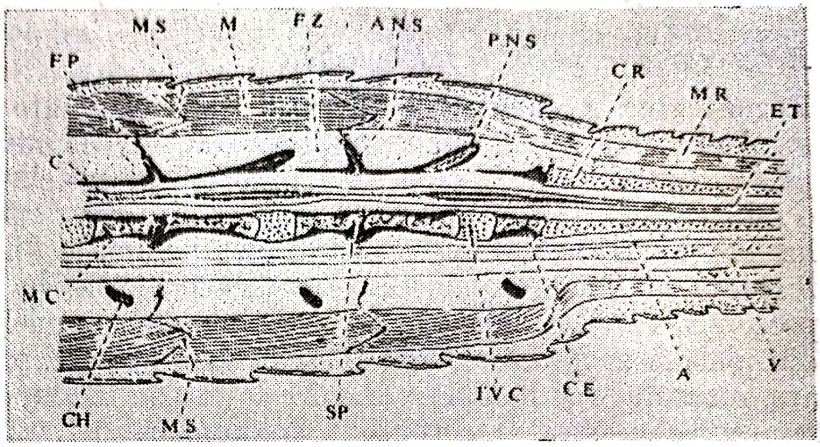


Fig. 27. — Regenerarea la adultul de *Lacerta vivipara* după autotomie (după Moffat și Bellairs).

A, arteră caudală; *ANS*, spină neurală anterioară; *C*, măduva spinării; *CH*, cartilaj vertebral; *CE*, centru al vertebrei rupte; *CR*, cartilajul regeneratului; *ET*, tub ependimar; *FP*, plan de fractură în zona grasă; *FZ*, zonă grasă; *IVC*, cartilaj intervertebral; *M*, mușchi caudali; *MC*, cavitate medulară; *MR*, mușchii regeneratului; *MS*, miosept; *PNS*, spină neurală posterioară; *SP*, despicătură de autotomie; *V*, venă caudală.

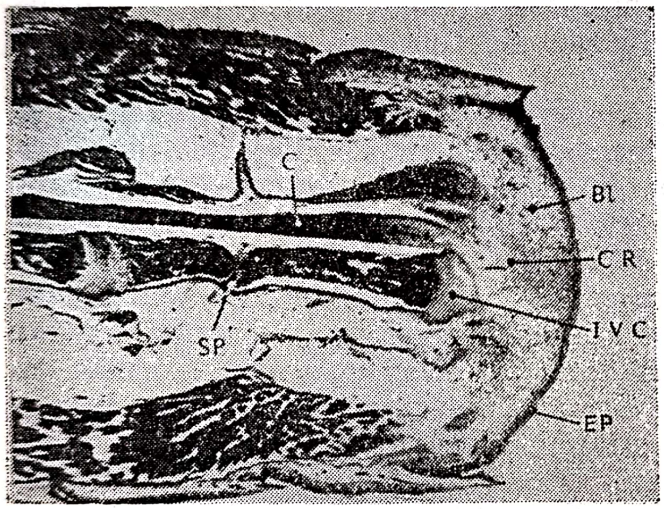


Fig. 28. — Șopîrlă adultă. Secțiune în regeneratul caudal la 24 de zile după amputare intravertebrală (după Moffat și Bellairs).

Bl, blastem; *CR*, cartilaj tînăr al regeneratului; *IVC*, cartilaj intervertebral; *EP*, tub ependimar; *C*, măduva spinării; *SP*, dehiscență autotomică centrală.

Cercetările efectuate la această clasă de vertebrate au demonstrat că la unele reptile blastemul de regenerare, caracteristic amfibiilor, este înlocuit prin țesutul de granulație, caracteristic păsărilor și mamiferelor. În formarea țesutului de granulație participă două surse celulare, și anume sursa hematogenă și sursa histogenă (tisulară). Sursa hematogenă are o importanță mai mare în primele faze ale regenerării, atunci cînd elementele celulare se transformă în celule migratoare ale țesutului de granulație. În fazele mai tardive ale regenerării crește însă importanța sursei tisulare, elementele celulare ale țesutului de granulație provenind în majoritate din această sursă. Este de subliniat faptul că cea mai importantă sursă histogenă o constituie țesutul conjunctiv de la marginea plăgii. Diferite cercetări au arătat însă că la diferiți saurieni *(Lygosoma, Lacerta, Sphaerodactylus, Anolis)* blastemul de regenerare are origini diferite, după cum are loc amputarea (autotomie sau injurie mecanică). Astfel, în autotomie, sursa blastemului de regenerare este formată din celulele septului conjunctiv, ale dermului, ale țesutului adipos, ale periostului, ale vertebrelor, celulele musculare neparticipînd la formarea acestui țesut, fapt constatat prin încorporarea timidinei marcate. În amputarea mecanică însă, mușchiul se dediferențiază și contribuie la formarea blastemului de regenerare (1119).

Scanned with OKEN Scanner

Toate aceste cercetări au stabilit că regenerarea organelor periferice la saurieni este mai apropiată de cea a amfibiilor (triton), pe cînd regenerarea la chelonieni este mai apropiată de cea a păsărilor și a mamiferelor (442), (615), (939), (960), (961), (1307), (1311).

Regenerarea cozii la reptilele adulte

Regenerarea la chelonieni. Prin cercetări efectuate la *Testudo* (939) s-a constatat că, la 12 ore după amputare, au loc, la nivelul țesuturilor din jurul plăgii, o vacuolizare și o necrozare a celulelor epiteliale mai apropiate de plagă, o infiltrație bogată în limfocite, o înmulțire și o dediferențiere vădită a celulelor conjunctive, formînd un strat mezenchimatos nediferențiat, și o degenerescență hialină a fibrelor conjunctive în corion. În centrul plăgii se remarcă prezența, sub un cheag sanguin voluminos, a unei rețele fibrilare, formată din plasmă sanguină coagulată și infiltrată cu leucocite, eritrocite, polinucleare, macrofage și histiocite. La 24 de ore de la amputare, capetele epidermice împreună cu stratul cornos al epidermului pătrund ca un ic subțire, prin încurbare, în plagă. La 5 zile de la amputare, apare în centrul plăgii, subepidermal, un țesut de granulație posedînd un strat profund germinativ, care se continuă pe lături și se bazează pe corionul dens al pielii nelezate. Marginile epiteliale, avînd în celulele cele mai marginale nuclei vacuolizați, încep să se apropie între ele, strecurîndu-se între țesutul de granulație și dopul plasmatic. La 7 zile de la amputare, marginile epiteliale avansează în plagă sub forma unor pinteni. Fundul plăgii este complet organizat într-un țesut de granulație care face joncțiunea, pe de lături, pe nesimțite, cu corionul pielii nelezate. La 9 zile de la amputare, capetele epidermice sînt aproape reunite în centrul plăgii, iar țesutul de granulație este transformat aproape complet în țesut conjunctiv. Epidermul separă total corionul subiacent de crusta exterioară, care începe să se desprindă. Urmează o fază de diferențiere a țesutului de regenerare, care conduce la restabilirea tegumentului normal.

La *Emys* (939), regenerarea are aceeași desfășurare, dar epitelializarea este mult mai lentă, terminîndu-se doar la 30 de zile după amputare.

Regenerarea la saurieni. La *Anolis* se constată, într-un prim timp (575), (939), acoperirea plăgii cu un coagul plasmatic și cu resturi celulare. La 2 ore după lezare, marginile epidermice prezintă celule vacuolizate și lezate. În restul plăgii se evidențiază organizarea dopului plasmatic într-o rețea fibrilară infiltrată cu celule sanguine, sub care se întîlnesc numeroase celule musculare în liză. De-a lungul traveelor conjunctive de la nivelul bontului se constată un aflux abundent de histiocite, care migrează către plagă. Urmează apoi epitelializarea plăgii după același model cu cel din regenerarea membrelor la amfibii. La 9 ore de la amputare, se constată proliferarea, prin migrare, a celulelor epiteliale de la nivelul epidermului vechi, care devine tot mai gros. Proliferarea nu are loc prin mitoze, ci prin alunecarea celulelor epiteliale marginale. Toată plaga este acoperită de reticulul plasmatic infiltrat cu numeroase celule sanguine. Sub reticul se întîlnește o zonă de infiltrare histiocitară, formată din histiocitele care au migrat de-a lungul traveelor conjunctive spre plagă. Capetele fibrelor musculare prezintă degenerescențe celulare. În traveele conjunctive ale capătului proximal al cozii se constată un aflux mare de histiocite. La 24 de ore de la amputare, infiltrația histiocitară este extrem de abundentă. La 3 zile de la amputare, epiteliul se întinde concentric către centrul plăgii, strecurîndu-se spre zona de infiltrație histio-

Scanned with OKEN Scanner

citară și spre reticulul plasmatic. În acest reticul, celulele își pierd individualitatea și încep să se lizeze. Sub infiltrația histiocitară se constată celule musculare degenerate. La 4 zile de la amputare, epiteliul progresează către centrul plăgii, iar crusta începe să se desprindă de pe plagă. La 5 zile de la amputare, crusta este desprinsă complet, infiltrația histiocitară scade și începe să se formeze un corion. La 7 zile, epiteliul este complet refăcut. El este gros, fiind format din mai multe straturi de celule, și acoperă în întregime stratul cornos. Sub epiteliu se organizează un corion. Urmează apoi faza de maturare a blastemului, creșterea și diferențierea sa. Atît epidermul, cît și blastemul conțin numeroase melanocite (575).

S-a constatat, tot la *Anolis*, că fibrele musculare ale regeneratului provin din diferențierea celulelor blastemale. Scheletul nou, care constă din tuburi nesegmentate de cartilaj, se dezvoltă în jurul tubului ependimar și se atașează de capătul proximal al vertebrei rupte. Inervația provine prin proliferarea nervilor spinali (575).

La *Ablepharus pannonicus*, regenerarea extremităților este doar parțială și se realizează într-o măsură mai mare în cazul amputării distale decît în cazul amputării proximale. Se constată o epitelializare fără mitoze și o acumulare de celule blastemale. La 15—20 de zile de la amputare, apar muguri musculari la extremitățile fibrelor musculare, care pătrund în regenerat. Scheletul se formează pe calea creșterii scheletului vechi, dar și prin diferențierea celulelor blastemale.

La *Lygosoma* (1119) (fig. 29), regenerarea cozii implică o serie de modificări histologice. Astfel, la o zi după autotomie, țesuturile bontului sînt

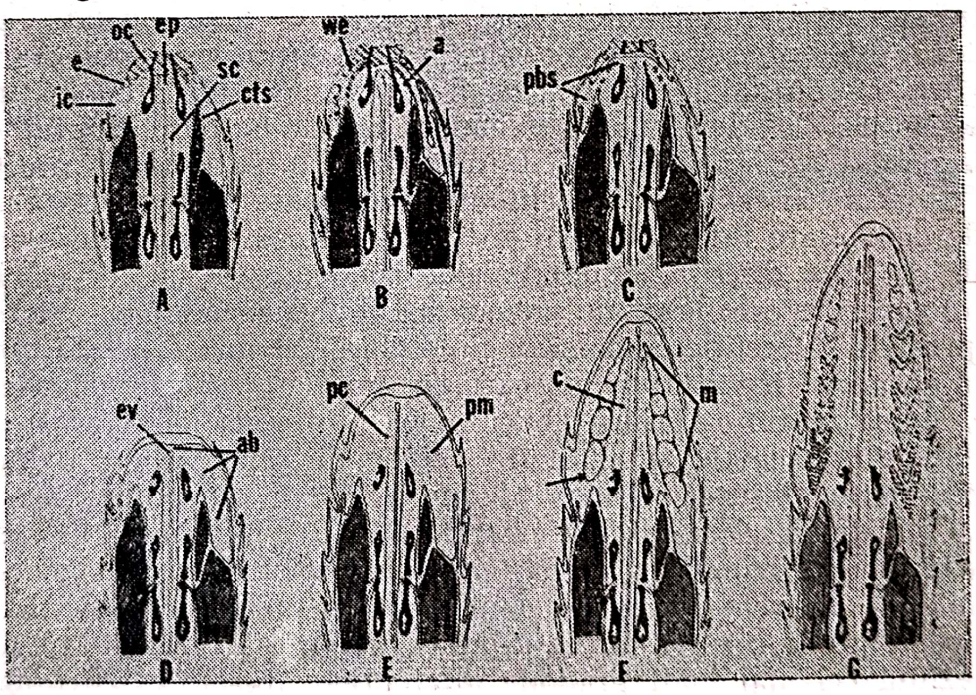


Fig. 29. — Regenerarea cozii la *Lygosoma*, pornind de la o suprafață de autotomie (după Simpson jr.).

A, 24 de ore după autotomie: *sc*, măduva spinării; *e*, epiderm; *oc*, cheag compact; *ic*, cheag spongios interior; *ep*, canal central al măduvei; *cts*, sept conjunctiv; fond întunecat=mușchi. *B*, ziua a 4-a — celulele epidermale migrează pe suprafața de amputare: *a*, țesut adipos; *we*, epiteliu regenerativ. *C*, ziua a 6-a — acoperire completă a suprafeței plăgii prin epiderm: *pbs*, spațiul preblastemic. *D*, ziua a 8-a — acumulare de blastem: *ab*, blastem; *ev*, veziculă ependimară. *E*, ziua a 10-a: *pm*, agregat de premușchi; *pc*, agregat de precartilaj. *F*, ziua a 15-a: *m*, agregate musculare în stare de segmentare; *c*, agregat cartilaginos în diferențiere. *G*, ziua a 30-a — regenerat complet.

Scanned with OKEN Scanner

acoperite de un coagul plasmatic și de eritrocite degenerate. Epidermul, de sub primul șir de solzi care înconjură plaga, crește în grosime și intră în mitoză. Septul conjunctiv, care marchează planul de autotomie, rămîne aderent de țesuturile bontului (mușchi și țesut adipos). În ariile sale de discontinuitate pătrund trunchiurile nervoase. Măduva se retractă și prezintă semne de degenerescență terminală moderată. Capătul terminal al canalului medular este umplut prin migrarea și agregarea celulelor ependimare. Mușchii și țesutul adipos ce înconjură suprafața plăgii nu arată semne de dediferențiere. În ziua a 4-a se constată închiderea completă a plăgii prin epiteliu, care devine invaziv (limbi lungi de epiteliu pătrund în spațiul preblastemic). Cu toate că țesutul conjunctiv este încă continuu, suprafața situată de-a lungul epiteliului este uneori dehiscentă. Celulele adipoase din apropierea plăgii suferă schimbări considerabile. Talia vacuolelor lor este redusă. Se mai constată că celulele epidermale care înconjură plaga încorporează timidina marcată. În ziua a 6-a, epiteliul acoperă complet plaga și prezintă numeroase mitoze. Apar, în epiteliu, un număr mic de fibre nervoase intraepidermale, care constituie sursa fibrelor nervoase regenerative ale nervilor periferici. Țesutul adipos își pierde progresiv integritatea morfologică. Porțiunea degenerată terminală a măduvei este populată de numeroase celule gliale. Ependimul formează o veziculă bulbară. Numărul celulelor care încorporează timidina marcată (celulele țesutului conjunctiv în dediferențiere, celulele periostale și osteocitele vertebrelor terminale, celulele țesutului adipos dediferențiat și cele ale tecii Schwann a fibrelor regenerative periferice) crește. Cele mai multe dintre celulele marcate sînt prezente în papilele epidermice de la periferia plăgii și în stratul germinal al epiteliului plăgii. În zilele 7—8 se constată îngroșarea epiteliului și diferențierea păturilor sale, precum și prezența unui mare număr de fibre nervoase intraepidermale. Tot în această perioadă are loc acumularea unui blastem populat de celule blastemale mezenchimatoase. Septul conjunctiv dediferențiat formează o linie de demarcare între mușchii nealterați și blastem. În ariile în care sînt prezente mase adipoase dediferențiate nu există o linie de demarcare între blastem și țesutul adipos. Blastemul este format din celule de talie diferită, remarcîndu-se condensarea acestor celule. Unul din aceste agregate este legat de alungirea tubului ependimar. Celelalte condensări premerg diferențierea maselor musculare. Se mai constată numeroase mitoze în ependim. Rezultatele marcării cu timidină, asociate cu cele privind mitozele, indică faptul că prima izbucnire de mitoze are loc în acest moment. Toate celulele blastemale și un mare număr de celule din epiteliu, septul conjunctiv, derm, țesutul adipos dediferențiat și ependim încorporează timidina. Celulele maselor musculare nealterate nu încorporează însă timidina. După 9—10 zile se semnalează persistența proceselor descrise, dar apar anumite semne de diferențiere în blastem, precum și condensarea blastemului în jurul ependimului, care va forma tubul cartilaginos al regeneratului. Aceste celule prezintă cel mai înalt grad de diferențiere (celule precartilaginoase). Se mai observă și mici condensări de celule blastemale în regiunile dorsală, laterală și ventrală ale blastemului, celule care formează agregatele premusculare și se situează la o anumită distanță de masele musculare nealterate ale bontului. Celulele respective sînt mononucleate și arată semne de diferențiere musculară striată. În ziua a 15-a se constată diferențierea blastemului. Pornind de la agregatele blastemale, se formează mușchii, corespunzători celor din bontul regenerativ. Totodată apar miofibrile. Agregatul anterior

Scanned with OKEN Scanner

precartilaginos este bine diferențiat. Aria blastemală dintre precartilaj și agregatele premusculare va forma, mai tîrziu, țesutul adipos. Această arie este traversată de nervii regeneratului. În zilele 20—30, agregatele premusculare se segmentează distal, iar părțile lor proximale devin mușchi maturi. Diferențierea completă a cartilajului are loc tot în această perioadă. Țesutul adipos nu este încă diferențiat (țesut adipos tînăr). Măduva este incomplet regenerată, fiind formată din ependim, celule gliale și nervi spinali descendenți. Vertebrele nu sînt încă regenerate.

Regenerarea cozii la embrionii șopîrlelor

Amputarea cozii la *Lacerta* anterior stadiului 39 nu este urmată de regenerarea organului, ci de o cicatrizare rapidă. După stadiul 39, coada poate regenera, dar nu în toate cazurile, regenerarea depinzînd de viteza de cicatri-

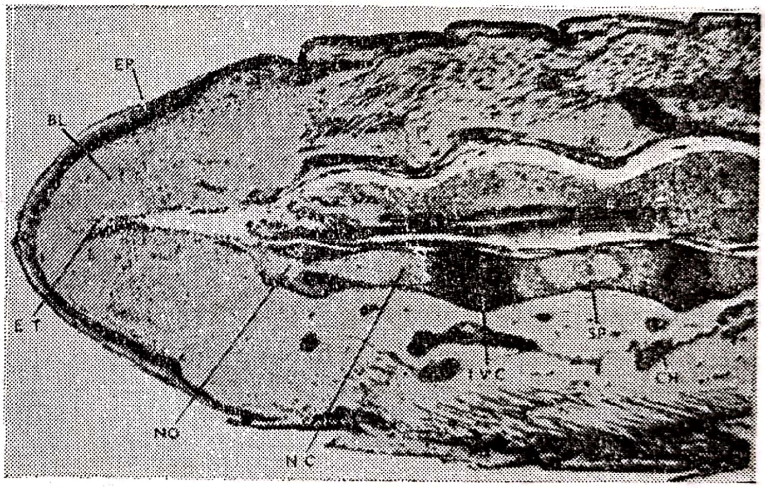


Fig. 30. — Embrion de *Lacerta* după ecloziune: secțiune a cozii arătînd regenerarea acestui organ după amputarea în stadiile 39—40 ale vieții embrionare (după Moffat și Bellairs).

BL, blastem; *CH*, cartilaj vertebral; *EP*, epiderm; *ET*, tub ependimar; *IVC*, cartilaj intervertebral; *NC*, coardă dorsală; *SP*, despicătură de autotomie.

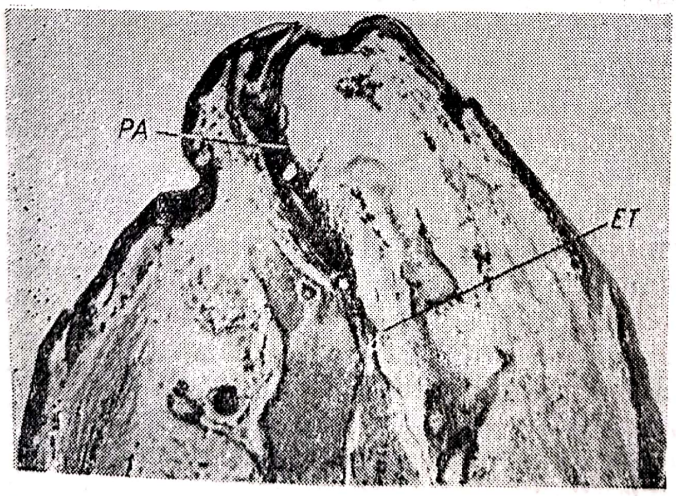


Fig. 31. — Șopîrlă tînără de 36 de zile arătînd lipsa regenerării după amputarea efectuată în stadiile 39—40 ale vieții embrionare (după Moffat și Bellairs).

PA, papilă epidermală; *ET*, tub ependimar.

zare și de întinderea suprafeței plăgii. Împiedicarea cicatrizării premature sau existența unei suprafețe întinse a plăgii sînt condiții care permit regenerarea cozii (779) (fig. 30—33).

Scanned with OKEN Scanner

La unele șopîrle se mai constată *regenerări atipice* ale membrelor în urma amputărilor spontane (499), (616), (617), (931).

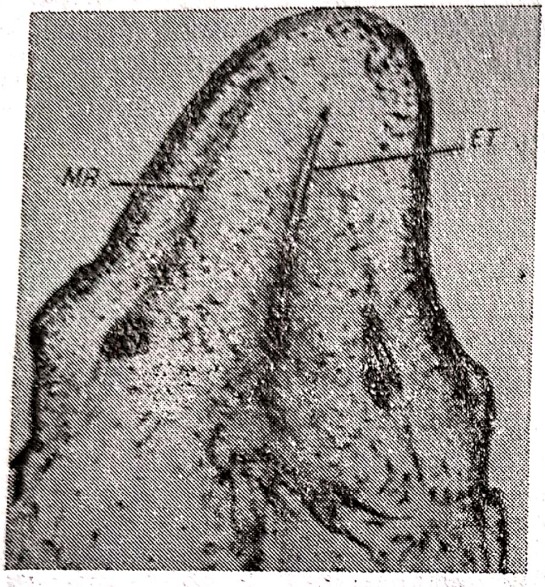


Fig. 32. — Șopîrlă tînără. Regenerarea cozii după amputare la 2 ore după eclozi-une (după Moffat și Bellairs).

MR, mușchi în regenerare; *ET*, tub ependimar.

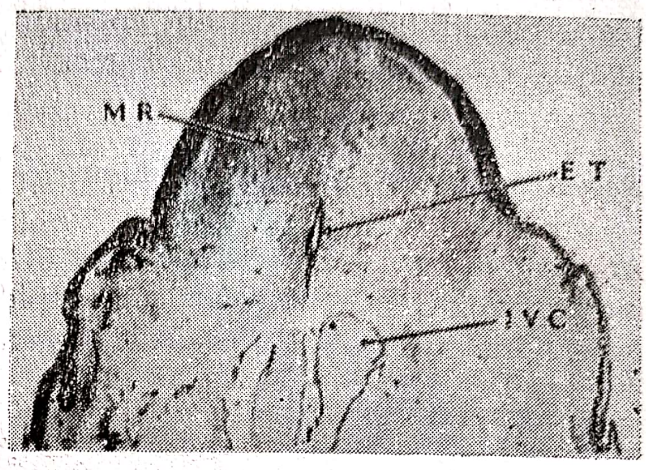


Fig. 33. — Șopîrlă tînără de 57 de zile. Stadiul regenerativ la 21 de zile după amputare intravertebrală în perioada postnatală (după Moffat și Bellairs).

MR, mușchi; *ET*, tub ependimar; *IVC*, cartilaj intervertebral.

Regenerarea tegumentului la păsări

Lezarea tegumentului la *embrionul de găină* demonstrează posibilitatea regenerării acestuia. Se constată că migrarea elementelor epiteliale este independentă de activitatea lor de creștere, precum și de formarea substratului dermic timpuriu (1405).

La *puiul de găină eclozat*, lezarea tegumentului este urmată după 2 ore de închiderea plăgii prin proliferarea țesutului conjunctivo-adipos lax, situat pe fața profundă a dermului. În mijlocul plăgii apare un țesut de granulație, constituit din fibroblaste. La 4 ore de la lezare, țesutul de granulație începe să fie înlocuit printr-un țesut conjunctiv tînăr. La 12 ore, epiteliul lateral începe să prolifereze, iar țesutul de granulație diminuează și mai mult în favoarea formării țesutului conjunctiv tînăr. La 24 de ore, plaga este complet epitelializată. Țesutul compact al dermului pielii din vecinătatea plăgii nu a pătruns încă în plagă. La nivelul plăgii rămîn doar urme din țesutul de granulație, care este complet transformat în țesut conjunctiv neoformat. La 48 de ore, începe proliferarea epiteliului și a țesutului conjunctiv subiacent. După 3 zile se constată îmbinarea țesutului conjunctiv al plăgii cu țesutul conjunctiv al dermului periferic (normal). La 5 zile se observă o continuitate fără soluție între țesutul conjunctiv compact al dermului pielii nelezate cu țesutul conjunctiv neoformat al plăgii, care devine, la rîndul său, compact (937).

La *puiul de găină*, în caz de traumă termică sau extirpare de tegument (2/2 cm²) se constată că grosimea epiteliului crește în jurul plăgii prin apariția mitozelor, iar intervalele dintre celule se măresc. Fenomenul de îngroșare a tegumentului în apropierea focarului de inflamație este caracteristic pentru

epiteliul tuturor vertebratelor terestre (reptile, păsări, mamifere), spre deosebire de vertebratele acvatice, unde epiteliile pluristratificate necornificate din jurul plăgii se subțiază brusc imediat după intervenția operatorie.

La puiul de găină se observă de la început, la 1—2 zile de la executarea leziunii, apariția unui epiderm regenerativ pluristratificat, format prin alunecarea epiteliului lateral pe masa de țesut granular tînăr, bine vascularizat, subiacent. Epidermul regenerat prezintă trei zone: zona profundă mitogenă, mai lată, cu celule bogate în protoplasmă; zona mijlocie, mai îngustă; zona externă, superficială, cu celule cornificate.

Este cert că regenerarea tegumentului la păsări se face respectîndu-se pluristratificarea și caracterul anizomorf al țesuturilor epidermale (81).

Regenerarea tegumentului la mamifere

Avînd în vedere imposibilitatea regenerării membrelor la mamifere, regenerarea organelor externe la aceste animale se limitează la regenerarea tegumentului. Regenerarea celorlalte organe periferice este împiedicată prin faptul că, în cazul amputării lor, se interpune între epiderm și derm un țesut cicatriceal defavorabil regenerării organului amputat. Regenerarea tegumentului apare deci ca singura regenerare posibilă și se face printr-o regenerare incompletă, în cazul plăgilor mari și infectate, și printr-o regenerare completă, în cazul plăgilor mici neinfectate.

Vindecarea defectelor tegumentului se efectuează la mamifere prin: a) contracția plăgii, epitelializarea ei, formarea și proliferarea țesutului de granulație; b) diferențierea țesutului epidermic și dermic. Aceste procese sînt corelate între ele într-o anumită ordine cronologică, refacerea țesutului dermic și subdermic avînd loc numai după procesul de epitelializare.

Contracția plăgii nu trebuie confundată cu contracția ei cicatriceală. Epitelializarea rapidă se face prin migrarea celulelor epiteliului ce înconjură plaga. S-a putut constata că epiteliul foliculilor piloși și al glandelor sebacee participă de asemenea la regenerarea epidermului superficial. În țesutul de granulație nu apar dediferențieri morfologice și nici acumulări concentrate de celule mezenchimale (1038). Celulele conjunctive tinere se transformă în fibrocite, limfocite, eozinofile, mastocite și celule grase, proces care nu pare a fi o adevărată diferențiere, ci mai degrabă o modulație.

Numeroase cercetări (24), (25), (36), (127), (128), (129), (130), (263), (371), (463), (550), (588), (644), (673), (812), (813), (815), (863), (937), (1038), (1050), (1051), (1052), (1090), (1091), (1096), (1157), (1169), (1185), (1363) au stabilit că regenerarea tegumentului la mamifere este cu atît mai organotipică cu cît animalul este mai tînăr.

La *Mus rattus*, la 2 ore după lezarea pielii, se constată că plaga este acoperită de un dop plasmatic. Celulele epiteliale de la buzele plăgii prezintă, în dese cazuri, procese de degenerescență. Totuși, în *stratum lucidum* se constată o primă reacție proliferativă, care conduce la o îngroșare omogenă, în care apar, în imediata vecinătate a soluției de continuitate, nuclei alungiți. Dermul de la nivelul buzelor plăgii prezintă o dislocare a fibrelor și o degenerescență a celulelor conjunctive. Hipodermul este dislocat și hemoragic la nivelul buzelor plăgii, iar pe fundul plăgii se constată existența unui strat hipodermic dilacerat, lacunar, întrerupt, cu infiltrații hemoragice.

Scanned with OKEN Scanner

Sforțările reparatorii ale epidermului, care își fac apariția la scurtă vreme după formarea crustei, se manifestă independent în două teritorii diferite ale sale: zona superficială, care se găsește imediat deasupra stratului granular, și zona profundă a stratului malpighian. Aceste sforțări se caracterizează prin proliferarea și prin migrarea concentrică a epiteliului marginal vechi. Banda proliferativă de la nivelul *stratum*-ului *lucidum* se împarte în două ramuri, dintre care cea superficială trece deasupra crustei, iar cea profundă sub crustă, suprapunîndu-se suprafeței mugurelui epidermic rezultat din proliferarea stratului malpighian. Bandeletele superficiale se unesc între ele, dar această proliferare superficială rămîne, de cele mai dese ori, o sforțare sterilă în actul de refacere a acestui țesut, fiind eliminată odată cu crusta pe care o acoperă.

Concomitent cu acest impuls superficial, apare însă și un alt impuls reparator, mai important și mai eficient, pe contul straturilor profunde (malpighiene superioare). Contrar așteptărilor, stratul bazal, care are un rol atît de însemnat în regenerarea fiziologică, prezintă aici un rol foarte șters. Epidermul se îngroașă la nivelul plăgii prin infiltrație seroasă; celulele malpighiene superioare își pierd aspectul poliedric și devin alungite, formînd un mugure care coboară pe dedesubtul crustei. Astfel, țesutul epitelial proliferează între crustă și țesutul de granulație pentru a se uni în centrul plăgii, uneori chiar înainte ca țesutul de granulație să ajungă pînă la el.

Odată epiteliul proliferativ reunit, se constată formarea unei lame epidermice, compusă exclusiv din celule turtite, suprapuse, cu nuclei alungiți transversal. În această lamă se diferențiază mai întîi celulele bazale, pe contul lor operîndu-se de jos în sus reclădirea diferitelor straturi epidermice.

Epiteliul este complet refăcut la 4 zile de la lezare, dar este lipsit de păr și de glande.

Spre deosebire de epiderm, a cărui pierdere de substanță se restabilește prin proliferarea directă a elementelor proprii acestui țesut plecînd de la marginile plăgii, regenerarea dermului se face prin intermediul unui țesut de granulație care pleacă din profunzime (la animalele de laborator din țesutul conjunctiv lax, situat deasupra și dedesubtul stratului muscular cutan). Acest țesut se dezvoltă cu totul independent de pereții dermului excizat și de epidermul de regenerare, conexiunea dintre țesuturi efectuîndu-se doar mai tîrziu, după epitelializarea plăgii.

Primul fenomen reprezentînd punctul de plecare al procesului reacțional de reparație constă într-o dilatare a vaselor, în special a vaselor profunde ale pielii, prin excitarea vasodilatatorilor, fenomen ce are loc la 3 ore după lezare. Paralel se produce o revărsare de serozitate, care inundă lumenul pierderii de substanță, loc unde se acumulează și se alcătuiește, împreună cu sîngele revărsat, crusta. Sub crustă se organizează o rețea de fibrină, care include în ochiurile ei un mare număr de polinucleare și care se fixează lateral, prin fibrele sale, de fasciculele dermice secționate, contribuind prin aceasta la apropierea marginii plăgii în urma retractibilității ei. În profunzimea plăgii, în masa transsudatului și în țesutul hipodermic lax edemațiat apar grupe de hematii și de celule tinere dediferențiate, care reprezintă celulele-mamă ale tuturor elementelor viitorului țesut de granulație (celule rotunde cu nucleu rotund central și cu citoplasmă acidofilă) și care provin din fibroblaste, granulocite, limfocite, monocite, histiocite, celule adipoase și musculare.

Scanned with OKEN Scanner

Elementele celulare din transsudat se inseră pe o canava *(rețeaua primordială* sau *reticulum)*, care apare independent de fasciculele conjunctive ale dermului secționat. Rețeaua apare sub forma de puncte (fenomene de precipitare în masa transsudatului), fiind o formațiune precolagenă destinată să prepare, prin intervenția unei enzime (colagenaza), dezvoltarea rețelei conjunctive propriu-zise. Procesul colagenizării fibrelor începe apoi în partea lor centrală.

Odată cu formarea reticulului se constată o intensă proliferare celulară a țesuturilor vechi, precum și o vascularizare tot mai activă dinspre fundul plăgii către suprafață.

Procesul de neoformare celulară începe la nivelul stratului celuloadipos, iar la animalele la care acest strat este slab dezvoltat începe din țesutul celular situat deasupra și dedesubtul musculaturii. O participare importantă revine capilarelor de neoformație, prin celulele lor periteliale (pericite), care se desprind de pe pereții capilarelor și migrează în masa infiltratului. În fine, la acest proces mai contribuie și celulele adipoase și musculare, care se dediferențiază și intră în multiplicare activă.

Toate aceste celule se fixează, prin prelungirile lor, în ochiurile rețelei. Odată cu aceste procese au loc colagenizarea reticulului și stabilirea legăturilor sale cu fasciculele conjunctive ale dermului secționat. Celulele integrate în reticul devin sediul unor proliferări locale evidente și al unei transformări în celule mari, cu nucleu ovoid, veziculos, bogat în cromatină, cu unul sau doi nucleoli situați marginal și cu o masă citoplasmatică enormă conținînd vacuome. Se realizează astfel țesutul de granulație, care se ridică treptat și repede către suprafață, atingînd, după 4—6 zile de la lezare, epidermul de neoformație. Legătura dintre epiderm și țesutul de granulație se face de la periferie către centru prin prelungirile celulelor țesutului de granulație.

La 4 ore după lezare, se observă pe fundul plăgii un strat hipodermic neîntrerupt, care se continuă cu hipodermul pielii nelezate. Deasupra acestui strat, în ochiurile reticulului se dispun celulele-mamă ale elementelor viitorului țesut de granulație, precum și vase de neoformație. La 8 ore de la lezare, aglomerarea celulară se separă în două straturi, unul profund, în care s-a format un sincițiu celular (celule cu volum mai mare și cu nucleul mai voluminos și mai clar, multe dintre ele unite printr-o masă citoplasmatică continuă), și altul superficial, în care celulele își păstrează caracterul autonom de celule germinative tinere. La 12 ore de la lezare, în țesutul de granulație se schițează o zonă productivă, de celule tinere proliferative, și o zonă de organizare profundă, în care apar fibre conjunctive diseminate fără ordine. La 24 de ore, zona de organizare începe să se îngroașe și se umple de celule, iar zona productivă ajunge la jumătatea înălțimii plăgii. La 48 de ore de la lezare, zona de organizare se îngroașă prin formarea continuă de fibre conjunctive născute la nivelul zonei productive. Această zonă cuprinde fibre grupate în mănunchiuri, celule conjunctive cu nucleu alungit (fibroblaste), numeroase vase, glande și corpusculi tactili. Se constată sporirea fibrelor conjunctive. Stratul ajuns astfel matur începe diferențierea sa. În zona productivă se găsesc foarte multe celule. La 4—6 zile de la lezare, țesutul de granulație face joncțiunea cu epidermul neoformat. În același timp se constată diferențierea celulelor acestui țesut, precum și regenerarea musculaturii dermice. Stratul exsudativ este încă prezent, dar foarte subțire. La 7 zile după lezare, pielea este aproape complet refăcută, matură și diferențiată, dar stratul

Scanned with OKEN Scanner

muscular dermic nu este încă complet refăcut. Stratul productiv al țesutului de granulație devine foarte subțire. La 14 zile, regenerarea pielii este completă și organul refăcut ia aspectul pielii normale.

Această desfășurare se întîlnește la animalele foarte tinere, unde are loc o *restitutio ad integrum*. La animalele mai vîrstnice intervin însă alte procese. Se constată că țesutul de granulație suferă o remaniere, și anume schimbarea direcției vaselor de neoformație, care se află în poziție verticală în raport cu pielea; fibroblastele se rarefiază și se dispun paralel cu suprafața pielii, între ele așezîndu-se fascicule conjunctive groase; fibrele elastice nu se refac decît parțial. Ia astfel naștere un *țesut cicatriceal*, care este departe de a reproduce structura și arhitectonia țesutului căruia i s-a substituit. Dispoziția fibrelor conjunctive, a vaselor, a nervilor este diferită. Țesutul elastic se reface doar parțial și numai la periferie. Organele anexe nu se refac. Rezultă deci o regenerare incompletă prin substituție.

Regenerarea pielii la om are loc, din punct de vedere cronologic, ca și la animalele de laborator. Epidermul migrator este caracterizat prin încrețirea membranelor celulare în perioadele tinere. Între epidermul neoformat și rețeaua de fibrină subiacentă se stabilesc lamine bazale și hemidesmoze. Formarea filamentelor, a laminei bazale și a desmosomilor este urmată, cronologic, de evoluția granulelor keratohialinice și, consecutiv, de keratinizarea suprafeței elementelor epidermale. Întreaga perioadă de migrare, de diferențiere și de keratinizare durează 3—5 zile. Țesutul de granulație provine din țesutul celulo-adipos și din elementele sanguine. Cea mai mare parte a granulocitelor se lizează și eliberează conținutul lor citoplasmatic în spațiul extracelular. Mononuclearele prezintă o serie de alterări morfologice, în cursul cărora dezvoltă o cantitate modestă de reticul endoplasmatic granular și un sistem extensiv de membrane netede. Țesutul conjunctiv perivascular adiacent plăgii conține celule slab dezvoltate sau fibroblaste imature. Dezvoltarea acestor celule la forma de fibroblaste mature are loc în diferitele stadii succesive ale regenerării plăgii. Se mai observă, la 4—7 zile după lezare, contacte intime între celulele bazale ale epidermului regenerat și monocite prin intermediul prelungirilor citoplasmatice ale celulelor bazale (MANKO, citat după (680); ODLAND și ROSS, 1968; ROSS și ODLAND, 1968).

S-a mai constatat, în fine, de către VORONȚOVA (citată după (678)) că în regenerarea pielii la mamifere există o creștere a țesuturilor nu numai la nivelul plăgii, ci și în restul organului *(hipertrofie regenerativă)*. Acest fenomen a mai fost observat la iepuri și la șobolani (716), (721).

Regenerarea organelor interne

Cele mai importante lucrări în acest domeniu au fost efectuate de către cercetătorii Institutului de morfologie experimentală din Moscova. Aceștia au stabilit că, practic, toate organele interne ale vertebratelor sînt capabile de regenerare organo-specifică, cu toată absența unui blastem de regenerare.

Încă din anii 1948—1949, VORONȚOVA (1347) a ajuns la concluzia că teoriile tradiționale ale regenerării trebuie revizuite, în sensul că la vertebrate capacitatea regenerativă a organelor nu dispare. Această idee a fost continuată de LIOZNER și școala sa (672), (673), (674), (675), (676), (677), (678), (679), (680), (685), care au arătat că organele interne ale vertebratelor nu

Scanned with OKEN Scanner

reacționează la injurie prin proliferarea neorganizată a țesuturilor, ci prin înnoirea lor structural-specifică.

Cercetătorii menționați au stabilit că în regenerarea organelor interne, spre deosebire de cea a organelor externe, nu are loc o neoformare a porțiunii amputate la nivelul plăgii. Astfel, defectul de formă — distorsiunea morfologică a organului lezat — nu se rezolvă. Este drept că procesele care au loc la nivelul plăgii prezintă un caracter mai evident epimorfotic în cazul unei leziuni marginale (periferice), dar sînt foarte slabe în cazul unei leziuni centrale a organului. În orice caz, rănile marginale se refac mult mai greu decît cele interne (219). Din aceste motive se consideră că rolul fenomenelor care se desfășoară la nivelul plăgii este secundar, neglijabil, în raport cu cel al fenomenelor care se succedă la nivelul organului restant, ele fiind lipsite de o semnificație biologică.

Procesele care au loc în organul restant sînt însă semnificative biologic, caracterizînd regenerarea organelor interne. Într-adevăr, această regenerare se face prin augmentarea numărului elementelor celulare și a volumului întregului organ, care reacționează la factorul de injurie.

VORONȚOVA a denumit acest proces *regenerare hipertrofică* datorită faptului că procesul regenerativ este bazat exclusiv pe augmentarea masei organului restant în urma unor procese de proliferare (hiperplazie) și a unor procese de hipertrofie. Regenerarea hipertrofică cunoaște, de fapt, două etape succesive, și anume: o etapă inițială, în care *predomină* proliferarea celulelor porțiunii restante a organului amputat *(etapa hiperplazică)*, și o a doua etapă în care *predomină* hipertrofia întregului organ *(etapa hipertrofică)*. La unele organe (ficat, rinichi etc.), hipertrofia privește toate celulele organului restant *(hipertrofie celulară)*, pe cînd la alte organe (parotidă, glande sublinguale etc.) hipertrofia privește *componentele structurale* ale organului (acini, lobuli etc.).

Există deci o primă perioadă în care se constată compensarea funcțională în organul restant prin hiperplazie celulară și o a doua perioadă în care are loc completarea masei de țesut prin hipertrofie. Această ultimă perioadă durează în funcție de gravitatea leziunii și de natura organului, fiind mai rapidă în ficat sau în plămîni și mai lentă în rinichi sau în glandele salivare (675). Se poate spune, în concluzie, că aceste două etape succesive conduc la restabilirea volumului și a structurii organului lezat, regenerarea organelor prin regenerare hipertrofică făcîndu-se organotipic.

Sînt unele păreri care consideră că încheierea restabilirii morfologice a organului lezat este paralelă cu restabilirea definitivă a funcției sale inițiale. Cercetările noastre (953), (954), (955), (958), asupra cărora vom reveni, demonstrează însă că restabilirea morfologică a organului amputat nu este însoțită de o restabilire concomitentă a funcțiilor sale. LIOZNER (1961, 1963, citat după (680)) apreciază că situația organelor după regenerarea hipertrofică este labilă și că o decompensare poate avea loc după un interval mai lung de la amputare.

Unii autori susțin că regenerarea organelor interne nu trebuie privită ca o regenerare propriu-zisă, ci doar ca o hipertrofie compensatorie. LIOZNER (680) a arătat însă că hipertrofia compensatorie este doar un fenomen de hipertrofiere a unui organ pereche (de pildă, rinichii) atunci cînd este rezecat un organ și are loc creșterea organului restant congeneric.

Scanned with OKEN Scanner

S-a constatat că regenerarea organelor interne variază după nivelul ontogenetic și filogenetic al vertebratelor și se face mult mai rapid la mormoloci și la embrioni. La broaștele adulte și la tritoni, ea este mult mai lentă și mai îndelungată decît la mamifere, de unde s-a tras concluzia că *capacitatea regenerativă a organelor interne crește odată cu filogeneza* (678).

De multe ori, perioada hipertrofică este de durată. Astfel, REABININA (1960, 1961) a demonstrat că, la 5 luni după lezare, în ficatul regenerat de șobolan se mai întîlnesc celule hipertrofiate. SAMSONIDZE (1958, 1960) a constatat prezența hipertrofiei celulare în rinichiul regenerat de șobolan chiar la 13 luni după lezare. PREDA și colab. (953), (955) au stabilit persistența hipertrofiei celulare la un timp îndelungat (1 an) după rezecarea parțială a ficatului. În schimb, BABAIEVA (1960) a remarcat în unele cazuri (parotidă, splină, ovare) lipsa hipertrofiei celulare după amputare (toți citați după (678), (680)).

Cunoscînd aceste date generale asupra regenerării organelor interne, vom urmări în cele ce urmează cum are loc această regenerare în diferite organe.

Regenerarea ficatului

Capacitatea uimitoare de regenerare a ficatului după o exereză parțială este confirmată de numeroase date experimentale. Astfel, chiar în condițiile îndepărtării unei cantități mari din ficat (două treimi), are loc o regenerare precoce și rapidă, ceea ce asigură recîștigarea în scurt timp a greutății și a volumului organului intact. Ablații repetate de țesut hepatic la același animal confirmă că ficatul se poate reconstitui de mai multe ori (958), (1061).

Ținînd seama de pluralitatea elementelor de structură care contribuie la arhitectura lobului hepatic, trebuie să subliniem că procesul restituției ficatului lezat, în mod natural sau experimental, afectează deopotrivă toate elementele sale constitutive. Cu alte cuvinte, compensarea defectului de masă presupune, în aceeași măsură, regenerarea epitelială, conjunctivă, vasculară și canaliculară.

Regenerarea ficatului nu are loc identic la diferitele vertebrate. Poziția filogenetică, structura organului în momentul amputării, vîrsta animalului (animalele tinere regenerează mai bine) au o anumită importanță în determinarea structurii finale a ficatului regenerat (554), (678), (685), (698), (1111).

Astfel, regenerarea ficatului are loc la amfibiile (mormoloci și broaște adulte) hepatectomizate parțial (554), (678), (680), (685) tot prin hipertrofie regenerativă, dar se constată că în unele cazuri (la axolotl și, în special, la anure) creșterea lobului hepatic amputat este doar relativ evidentă.

Ficatul de pasăre amputat parțial regenerează de asemenea prin hipertrofie regenerativă (SIDOROVA, 1961, citată după (680)).

Regenerarea ficatului a fost urmărită în special la mamifere: iepure, șoarece, șobolan, maimuță (REABININA și USTINA, 1963, citate după (680)). Ea are loc oarecum diferit, după natura amputării.

Astfel, la iepure (187), (358), (940), (941), regenerarea ficatului după o hepatectomie parțială, *atunci cînd secțiunea de amputare se face intralobar*, este inițiată de proliferarea canaliculelor biliare, care înmuguresc din vîrfurile amputate ale canaliculelor organului restant. Noile celule hepatice apar

Scanned with OKEN Scanner

în jurul canaliculelor biliare și al ramurilor venei porte. Se constată că ulterior are loc trecerea de la celula epitelială a canalicului biliar regenerat la celula hepatică neoformată (187). Astfel, la 7 zile după amputare, țesutul hepatic din jurul plăgii suferă modificări din cauza hemoragiei și a dezvoltării țesutului conjunctiv stromatic. Traveele sale sînt mai înguste, iar spațiile intertraveale foarte largi. Țesutul hepatic de la acest nivel se necrozează (autoliză parțială, citoplasmă confluentă, pierderea limitelor dintre celule). În țesutul conjunctiv care acoperă plaga se găsesc zone de țesut hepatic în necroză pronunțată și mici focare hemoragice. Țesutul conjunctiv neoformat se compune din fibre și celule conjunctive; se observă și celule epiteliale cu caracter pseudohepatic, care formează lacune (canalicule biliare de neoformație), vase neoformate și insule de celule epiteliale. La 14 zile de la operație, limita dintre țesutul hepatic și plagă este net delimitată, mai ales în părțile laterale, printr-un țesut conjunctiv bogat în fibre și în care, în zona sa centrală, se găsesc canalicule biliare de neoformație, înconjurate de un țesut conjunctiv mai lax, avînd în unele zone un caracter mucos. Țesutul conjunctiv conține multe vase de neoformație și este infiltrat de leucocite. Deasupra lui se găsește o zonă hemoragică cu numeroase elemente sanguine (limfocite și, în special, eozinofile), conținînd porțiuni de țesut necrotic. La 24 de ore de la operație, se observă deasupra țesutului hepatic normal un strat de țesut conjunctiv de granulație, care nu este separat de țesutul normal printr-un strat fibros, așa cum este cazul la 14 zile de la operație. În acest țesut se găsesc canalicule biliare și vase de neoformație, precum și o infiltrație cu leucocite. Deasupra țesutului de granulație se află o zonă mare necrotică. Ulterior, țesuturile necrozate sînt absorbite și elementele parenchimatoase rezultate din proliferarea canaliculelor biliare refac structura hepatică.

Regenerarea ficatului după hepatectomie parțială la șobolan, *în cazul ablației unui lob întreg*, constituie cea mai tipică formă de regenerare hipertrofică. Cercetările mai amănunțite privind regenerarea hepatică la șobolan (20, (40), (180), (181), (193), (204), (254), (273), (281), (313), (314), (357), (369), (380), (465), (466), (546), (554), (629), (634), (708), (733), (734), (735), (737), (738), (749), (753), (831), (855), (927), (942), (947), (948), (949), (950), (951), (952), (953), (954), (955), (957), (970), (971), (972,) (1109), (1110), (1111), (1203), (1204), (1205), (1370) au condus la o serie de constatări.

Astfel, pe plan macroscopic se observă o creștere a masei și a dimensiunilor organului, ficatul parțial hepatectomizat revenind cu timpul la ponderea corespunzătoare vîrstei și taliei animalelor martor.

Pe plan microscopic, regenerarea hepatică decurge astfel (753): a) în primele 24 de ore consecutive intervenției operatorii există o etapă premitotică, caracterizată printr-o intensă hipertrofie a tuturor elementelor constitutive; b) etapa din zilele 2—3 reprezintă perioada hiperplazică, de proliferare mitotică; c) etapa cuprinsă între zilele 3 și 7 postoperator cuprinde o scurtă perioadă de repaus relativ, urmată, pînă la restituția biomasei hepatice, de rare mitoze pe fondul de hipertrofie celulară, care se menține timp îndelungat.

În etapa premitotică, imediat după îndepărtarea unei anumite cantități din biomasa țesutului hepatic, îndepărtare ce poate merge pînă la extirparea a 2/3 din masa hepatică, se constată că celulele parenchimatoase ale

Scanned with OKEN Scanner

ficatului restant încep să prezinte unele modificări regresive, ca dediferențierea structurală, hiperhidratarea celulară însoțită de creșterea în volum a nucleilor. Totuși, paralel cu aceste fenomene se observă o hipertrofiere a elementelor constitutive și a lobulilor chiar din prima zi după operație (598), (753), (1109), (1110), (1111).

În etapa de *hiperplazie celulară* parenchimatoasă se constată o puternică activitate mitotică, apărînd la 24 de ore după intervenție (698), (753) și avînd un vîrf de activitate la 30 de ore (753) sau chiar la 36 de ore (698). După unii autori, activitatea mitotică nu ar scădea decît la 10—19 zile după operație. Alți autori (273), (554), (1205) descriu existența a două valuri mitotice, la 24 și la 48 de ore după hepatectomia parțială. Primul val de mitoze este urmat de instalarea unui veritabil aspect de poliploidie, caracterizat prin apariția a numeroase celule cu 4n, 8n sau chiar 16n cromosomi. Valul de diviziuni celulare care are drept rezultat sporirea elementelor funcționale ale ficatului, pe de o parte, generează endoploidia caracteristică, iar pe de altă parte, progresînd de la periferie spre centru, stabilește zona periferică a lobulilor hepatici drept zonă activă. În fine, în pofida incidenței crescute a diviziunilor celulare, ordinea ritmicității nictemerale a succesiunii lor este păstrată (1034), (1332).

Diviziunea celulelor țesutului mezenchimatos, ale canaliculelor biliare și ale axelor vasculare este în întîrziere față de cea a hepatocitelor (698).

Consecința acestor procese este formarea de *celule binucleate*, caracteristice procesului de proliferare a parenchimului hepatic după hepatectomiile parțiale, celule care, după unii autori, apar la 9 zile după hepatectomie (629), (634). Maros și colab. (733), (734), (735), (738), (749), (753) au insistat asupra importanței variațiilor cantitative ale hepatocitelor binucleate ca indice — mai sigur decît mitozele — pentru evaluarea intensității procesului regenerativ.

Etapa hiperplazică este urmată de o perioadă în care precumpănește *hipertrofia celulară*. Hiperplazia și hipertrofia fac ca, încetul cu încetul, ficatul să-și recupereze volumul inițial, fără remanieri structurale ale masei sale (fără modificări distrofice) și fără refacerea *de novo* a părții amputate (40), (357).

Regenerarea hipertrofică a ficatului amputat parțial nu conduce deci la formarea de noi lobuli, ci numai la augmentarea masei hepatice restante. Hiperplazia și hipertrofia, care stau la baza acestui rezultat, se imbrică, putîndu-se totuși constata predominarea uneia dintre ele în cele două perioade succesive, etapa hiperplazică și cea hipertrofică.

S-a mai observat că nu toate hepatocitele sînt egal implicate în procesul de regenerare (254), (281), (313), (314), (422), (465), (831). Castagna și colab. (180) au efectuat o fracționare a hepatocitelor izolate din ficatul în hipertrofie regenerativă, izolînd trei fracțiuni de hepatocite atît în fazele de multiplicare celulară (la 24, 44 și 68 de ore), cît și în faza de reîntoarcere la starea staționară (cu 45 de zile mai tîrziu). Autorii au constatat că hepatocitele prelevate în diferiții timpi ai regenerării se comportă ca populații diferite după gradientul lor de densitate. Populația de hepatocite ușoare intră prima în ciclul de înmulțire și participă preponderent la multiplicarea celulară. Distribuirea în gradient de densitate a hepatocitelor reflectă distribuirea lor topografică, localizarea fracțiunii ușoare fiind periportală. Aceasta parti-

Scanned with OKEN Scanner

cipă mai activ la regenerare și trece mai repede de la starea vegetativă la cea de replicare.

S-a stabilit că regenerarea este însoțită de o hipertrofiere a aparatului condriomal și a celui golgian al hepatocitelor (951).

În parenchimul restant lipsesc inițial leziuni semnificative la limita dintre parenchim și stromă, ceea ce explică prevalența reacțiilor epiteliale.

În ceea ce privește evoluția celulelor stromale, se constată că, în primele ore după rezecția de ficat, celulele kupfferiene cresc în volum, apoi, odată cu intensificarea funcției granulopexice, numărul lor se dublează, pentru ca să revină la normal în ziua a 7-a după hepatectomia parțială. În epiteliul biliar, fenomenele de diviziune celulară apar mai tîrziu, cifrîndu-se doar la 0,58% față de 0,93%, cît este valoarea maximă a indicelui de mitoză în celulele kupfferiene la 48 de ore după hepatectomie. Primele semne de regenerare a sectorului biliar terminal se evidențiază în etapa de plin avînt al multiplicării hepatocitelor, mitozele făcîndu-și apariția, la nivelul epiteliului biliar, în perioada de declin al primului val de mitoze din parenchim. Extinderea spațială a canaliculelor biliare are loc însă numai după stabilirea noilor relații între parenchim și vasele neoformate, începînd cu ziua a 5-a și sfîrșind cu ziua a 17-a după hepatectomie. Se apreciază că, în prima etapă a regenerării normale, ar exista un „asincronism" evident între hiperplazia parenchimatoasă și cea biliară, ultima conturîndu-se clar numai după ce regenerarea parenchimatoasă a atins un stadiu avansat. În etapa consecutivă hepatectomiei parțiale, mărirea fluxului sanguin în ficat determină un proces de intensă înmugurire vasculară. La început apar semne de adaptare dimensională a venulelor mari, urmate de extinderea în spațiu a elementelor vasculare mici, care respectă dispoziția geometrică a arhitectoniei lobulare. Întregul proces de formare a noilor garnituri lobulare tipice este strîns corelat cu proliferarea vaselor, ducînd, în final, la restabilirea raportului normal dintre parenchim și elementele vasculare ale ficatului (753).

S-a mai constatat (947) că, în hepatectomia parțială la șobolan, substanța fundamentală argirofilă prezintă o topire discretă între zilele 14 și 24 (în extirpările de 20% ale masei hepatice) sau o topire accentuată între a 5-a și a 14-a zi și o recondensare spre normal între zilele 24 și 35 (în extirpările de 60% din masa hepatică) (fig. 34).

Aprecierea cantitativă a biomasei hepatice refăcute, deși este foarte subiectivă, confirmă, în primul rînd, prezența fenomenului de hipertrofie celulară, fenomenele fiind depistabile în primele ore după intervenție.

Potrivit rezultatelor comunicate de către Brues și Drury (citați după (1211)), aria celulelor crește cu 50—60% în prima zi după intervenție, ceea ce conduce la creșterea greutății ficatului regenerativ cu 44%. Totodată, numărul celulelor din ficatul regenerat crește cu 64%. În a 3-a zi după exereză, greutatea ficatului crește cu mai puțin de 10%, iar numărul celulelor cu 26%. Autorii consemnează, la populațiile de celule regenerative, depășirea ariei normale a celulelor timp de 12 zile după hepatectomia parțială. Această creștere în volum a celulelor afectează toți constituenții celulari, inclusiv nucleul și nucleolul.

Se constată în general că, odată cu creșterea incidenței diviziunilor celulare, descrește media volumului celulelor.

Conform observațiilor lui Higgins și Anderson (citați după (1332)), în exereza a 70% din țesutul hepatic, ficatul restant își dublează volumul

Scanned with OKEN Scanner

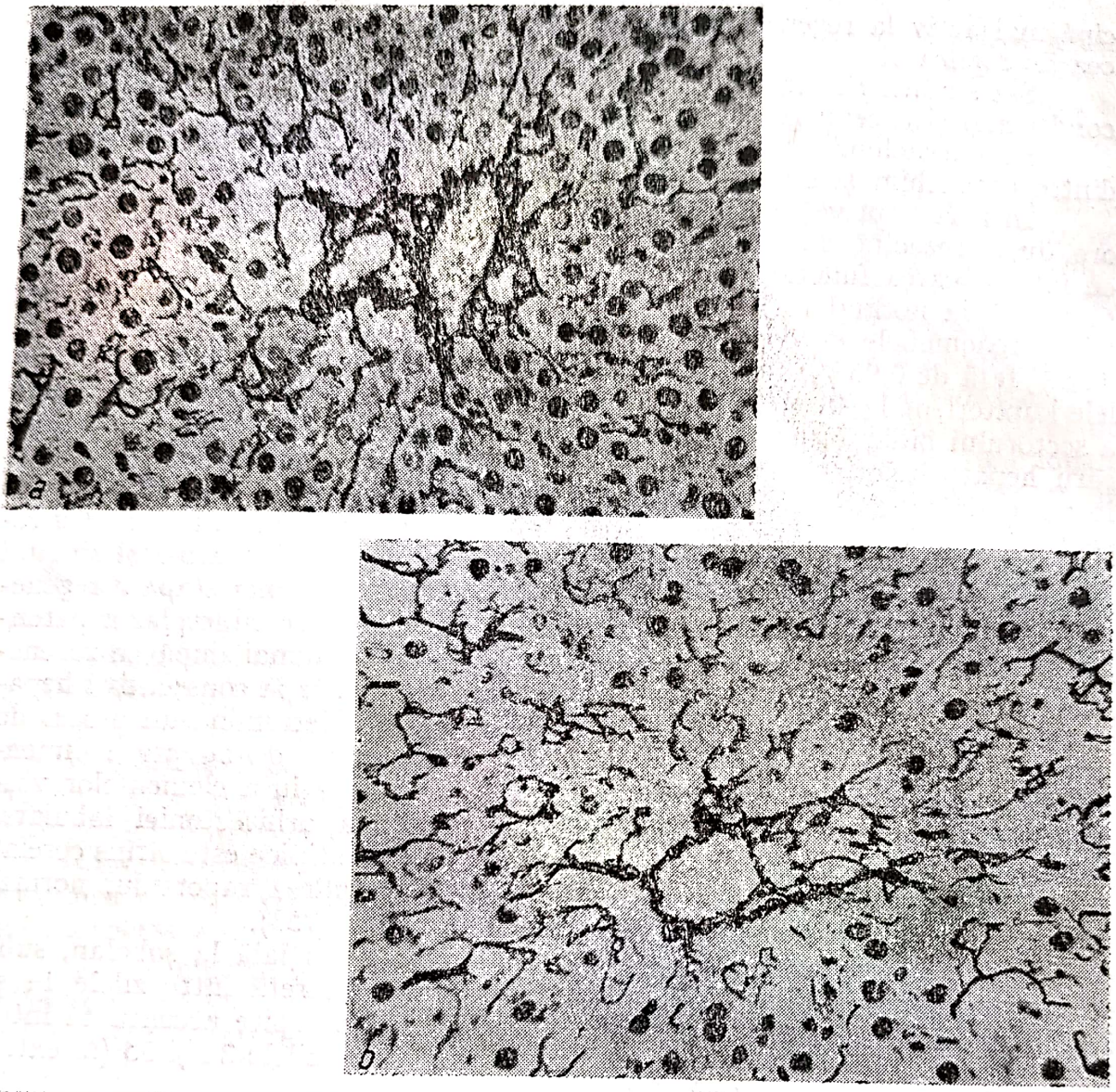


Fig. 34. — Substanța fundamentală argirofilă: *a*, în ficatul normal de șobolan; *b*, în ficatul rezecat (60%) după 5 zile; *c*, în ficatul rezecat (60%) după 35 de zile.

Scanned with OKEN Scanner

la 28 de ore după intervenția operatorie, cîștigîndu-și greutatea inițială a organului la 14 zile după operație. În următoarele 28 de zile, greutatea inițială a organului este însă depășită.

La animalele cu ficat regenerat, raportul dintre greutatea corporală și ficat suferă anumite modificări. În timp ce la animalele normale în vîrstă de 17 luni, atunci cînd se stabilizează creșterea ficatului, aceasta reprezintă 3,4—3,8% din greutatea corporală, la animalele de aceeași vîrstă cu ficatul regenerat organul nu reprezintă decît 2,7% din greutatea totală a corpului (970), (971), (972).

Cu toate că numeroși autori consideră că restabilirea morfologică și funcțională a ficatului regenerat se face foarte repede, REABININA (citată după (678), (970), (971), (972)) a arătat că, cu timpul, numărul celulelor mono- și binucleate ale ficatului amputat crește și, odată cu aceasta, crește și poliploidia lor. Celulele binucleate își dublează numărul; această situație împreună cu hipertrofierea celulelor hepatice se regăsește și la 5 luni după amputare. Restabilirea morfologică s-ar face numai între 11 și 17 luni de la amputare, cînd se observă reducerea dimensiunilor medii ale celulelor și nucleilor, diminuarea numărului hepatocitelor binucleate și scăderea marcată a fibrelor de reticulină, fără să se constate modificări distrofice. Deci, la 2—7 luni de la operație are loc creșterea treptată a numărului și a dimensiunilor celulelor binucleate (hipertrofia celulelor și a nucleilor lor), iar la 11 luni de la amputare se constată începutul reducerii dimensiunilor celulare și a proliferării fibrelor de reticulină.

Cercetările noastre (953), (955) au demonstrat, de asemenea, că la 1 an după hepatectomia parțială situația morfologică și funcțională a ficatului nu este restabilită. La această dată se mai constată un număr crescut de celule binucleate, un polimorfism al populației celulare, o hipertrofiere a țesutului conjunctiv perivascular, o abundență de fibre de reticulină (fig. 35),

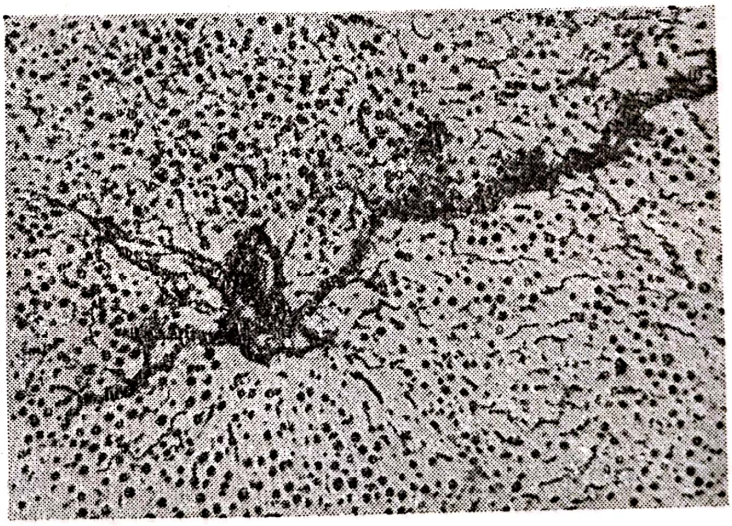


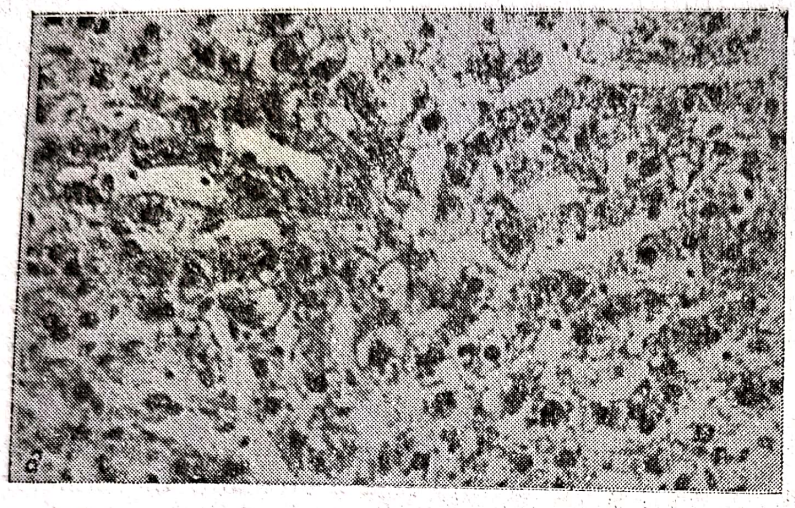
Fig. 35. — Regenerarea ficatului de șobolan la 1 an după hepatectomie. Situația rețelei de reticulină.

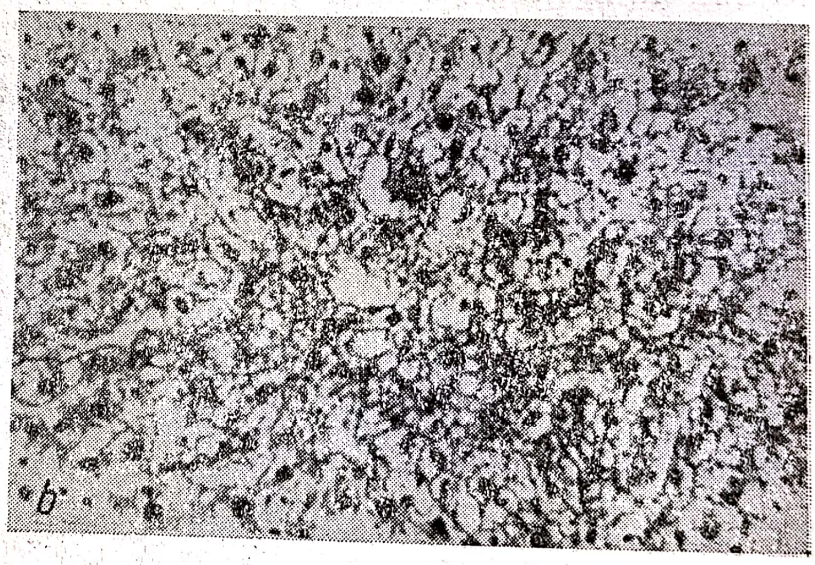
o hipertrofie citonucleară a hepatocitelor și numeroase modificări histochimice și histoenzimologice ale ficatului. Hipertrofia parenchimului hepatic amputat este deci de durată.

Cercetările efectuate în problema regenerării ficatului au mai arătat că, în ficatul regenerativ, se constată un raport nucleo-plasmatic diferit de cel din ficatul normal, de unde concluzia că regenerarea ficatului nu este comparabilă cu creșterea normală a acestui organ (546).

Scanned with OKEN Scanner

Regenerarea ficatului de șobolan a fost studiată și *in vitro* (952), (957). La șobolanul adult, pe culturi de fragmente de ficat regenerativ prelevate la 48 de ore după amputare în mediul Wolff-Haffen (3—7 zile de cultură), se constată menținerea structurii normale a ficatului și absența metamorfozei grase. Fragmentele de ficat regenerativ de șobolan adult prelevate la





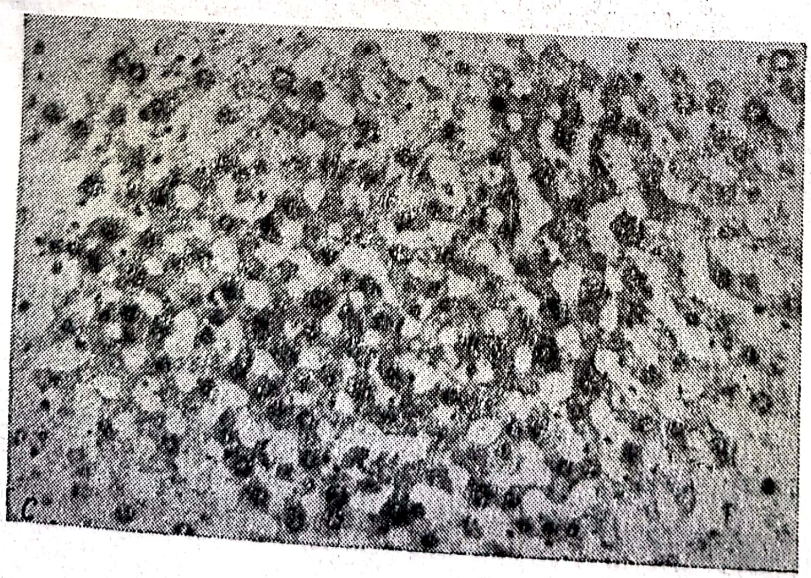


Fig. 36. — Fragment de ficat regenerativ de șobolan, prelevat *in situ*: *a*, la 6 zile după amputare, necultivat; *b*, la 3 zile după amputare, cultură de 3 zile; *c*, la 3 zile după amputare, cultură de 6 zile.

Scanned with OKEN Scanner

3 zile după amputare au însă un comportament diferit după timpul de cultură. Astfel, după o cultură de 3 zile, se observă păstrarea structurii hepatice, hipertrofia celulelor, multe celule prezentînd nuclei enormi în stare proliferativă, și o metamorfoză grasă. După o cultură de 6 zile, se constată diminuarea vacuolelor lipidice. Prelevarea fragmentelor de ficat regenerativ la 6 zile după amputare și cultivarea lor timp de 3—6 zile conduc la păstrarea structurii hepatice și la prezența de rare și mici vacuole lipidice. Prin urmare, evoluția ficatului regenerativ în cultură continuă în mod obișnuit evoluția începută *in situ* (fig. 36).

Se poate deci spune că regenerarea ficatului de șobolan este marcată prin succesiunea fazelor de hiperplazie și de hipertrofie celulară. Procesul de hipertrofie încetinește pe măsură ce greutatea ficatului inițial este recîștigată. Este vorba de un fenomen de reglare, dat fiind că o nouă amputare a ficatului poate fi urmată de o recrudescență a fenomenului de hipertrofie. Regenerarea ficatului este deci controlată, factorul de control fiind un factor plasmatic (albumină? fosfolipide? corticoizii suprarenali? (698)).

Regenerarea ficatului la șoarece are loc după același model ca și la șobolan (LIOZNER și colab., 1959, citați după (678)).

Regenerarea rinichiului

Regenerarea rinichiului la mamifere se face tot prin regenerare hipertrofică. Modelele experimentale folosite în studiul regenerării rinichilor se rezumă la: a) extirparea a 75% din masa renală prin îndepărtarea totală a unui rinichi și a jumătății celuilalt rinichi; b) extirparea a 50% din masa renală prin îndepărtarea cîte unei jumătăți din fiecare rinichi; c) îndepărtarea unui rinichi întreg, celălalt rămînînd intact (678), (680).

În cazul ablației de 75% din masa renală, coeficientul mitotic este cel mai ridicat, astfel încît între 6 și 12 luni de la operație rinichiul restant atinge 80% din greutatea celor doi rinichi. Este însă adevărat că în acest caz decompensarea funcțională se instalează foarte rapid.

În al doilea caz (ablația de 50% din masa renală) se constată că, a 5-a zi după operație, cele două jumătăți de rinichi ating greutatea de 90% din greutatea rinichilor de control. După a 5-a zi, greutatea rinichilor regenerați începe să scadă, menținîndu-se vreme îndelungată sub valoarea normală. După 6 luni de la operație, greutatea masei renale crește, atingînd la 12 luni valoarea ponderală a rinichilor de control. Saltul curbei din primele zile după operație se explică prin fenomenele de anurie ce însoțesc trauma.

În cazul ablației unui rinichi întreg, greutatea rinichiului restant crește extrem de încet. La 6 luni de la intervenție, greutatea rinichiului restant reprezintă doar 68—72% din greutatea ambilor rinichi. În acest caz, ca și în cazul precedent, indicele mitotic este mai scăzut, iar decompensarea funcțională este mai mică.

Se constată histologic că extirparea unei porțiuni din rinichiul șobolanilor, porțiune care cuprinde atît corticala, cît și medulara, este urmată, în

Scanned with OKEN Scanner

primele zile după ablație, de o proliferare a celulelor conjunctive și a celulelor diferențiate din epiteliul renal restant. Epiteliul renal regenerat se prezintă în grupe de 10—20 de celule, cu nuclei mari ovoizi. Din aceste grupe se formează ulterior glomerulii. Cordoanele și tuburile epiteliale se diferențiază apoi în canalicule renale (869). Studiind regenerarea rinichiului după nefrectomia totală a unui rinichi și după rezecția parțială a celuilalt, SAMSONIDZE (1960, citat după (678), (680)) constată că rinichiul restant de șobolan își regenerează glomerulii și canaliculele prin hiperplazie și prin hipertrofie. Hipertrofia citoplasmatică și nucleară este caracteristică atît celulelor corpusculilor Malpighi, cît și celor ale tubilor renali. Această hipertrofie se regăsește chiar la 15 luni după amputare, nefiind însoțită de o distrofie paralelă a organului, ceea ce înseamnă că la această dată situația prezentă imediat după amputare nu este încă normalizată. Pe de altă parte, FARUTINA (1961, citată după (680)) a arătat că, la lungi intervale după amputarea rinichiului de șobolan, mai apar dereglări ale funcției renale și scleroza a foarte mulți glomeruli. Tot FARUTINA (1962, citată după (680)) constată că înălțimea epiteliului tubilor contorți crește odată cu hipertrofia și nu revine la normal decît la 6 luni după amputare. Aceeași autoare observă că regenerarea este mai rapidă și mai completă după amputarea fiecărei jumătăți a rinichilor decît după amputarea unui rinichi întreg.

Regenerarea parotidei

Cercetările efectuate de BABAIEVA (citată după (678), (680)) au arătat că glanda parotidă a cobaiului regenerează pornind de la două surse: cea mai mare parte este formată în urma proliferării celulelor secretorii și este de structură tipică, în timp ce o mică parte, de structură atipică, provine prin proliferarea celulelor canaliculare. În felul acesta, glanda parotidă nu regenerează prin hipertrofie celulară, ci numai prin proliferare celulară, care conduce la o hipertrofiere a acinilor. La șobolani, regenerarea parotidei se face numai prin proliferarea acinilor.

Regenerarea glandei sublinguale

Regenerarea glandei sublinguale se face, după BABAIEVA (1960, 1961, 1962, citată după (678), (680)), pe de o parte grație proliferării prin mitoze a celulelor canalelor excretorii, iar pe de altă parte prin hipertrofia părții restante, aceasta fiind principala sursă de refacere a glandei. GUSSAK (431) a constatat însă că, în urma unei injurii termice a glandei sublinguale la șobolan, proliferarea epitelială a tubilor și a conductelor are loc în interiorul unui țesut de granulație și este urmată, la 10—15 zile de la lezare, de o diferențiere secundară a structurilor epiteliale, proces în urma căruia rezultă formarea de lobi glandulari noi de partea defectă, acești lobi fiind similari cu cei vechi. Dacă lobii nou formați iau contact cu sistemul de ducte ale vechii glande, ei vor

Scanned with OKEN Scanner

funcționa perfect. În caz contrar, vor degenera. Deci, după GUSSAK, regenerarea glandei sublinguale prin regenerare hipertrofică este nesemnificativă.

Regenerarea glandei tiroide

La puiul de găină are loc prin regenerare hipertrofică, chiar în cazul extirpării unei treimi din lobul stîng (1342).

La mamifere, regenerarea glandei tiroide se face tot prin regenerare hipertrofică. ZAIȚEV (citat după (678), (680)) a stabilit că sursa de regenerare a parenchimului o constituie foliculii mici și mijlocii. VOITKEVICI (citat după (678), (680)) a constatat că acțiunea trofică a mezenchimului joacă un rol important în refacerea glandei, fiind strîns corelată cu regenerarea parenchimului și influențată de compoziția și de cantitatea hormonilor secretați de țesutul glandei restante. GIBADULIN (1962, citat după (680)) a observat că regenerarea la șobolan este mai rapidă și mai completă după amputarea fiecărei jumătăți a lobilor decît după amputarea unui lob întreg.

Regenerarea corticalei glandei suprarenale

Această regenerare a fost studiată la șobolan (65), (133), (418), (425), (452), (1053), (1288), (1447), la cobai (412), (505), la iepure (1419) și la șoarece (428), demonstrîndu-se că glanda are potențialități reglative și regenerative considerabile.

Cercetări întreprinse pe șobolani albinos, la care s-a efectuat decorticarea aproape completă a suprarenalelor (1288), au stabilit că, la 14 zile după intervenție, au loc regenerarea și diferențierea regeneratului în zonele glomerulară, fasciculată și reticulară. Formarea porțiunii cambiale și, consecutiv, pătrunderea celulelor regenerate în ariile tot mai profunde, în interacțiune cu țesutul conjunctiv, reprezintă mecanismele esențiale în vederea diferențierii morfofuncționale a substanțelor corticale. Caracteristicile ritmului diurn al mitozelor în diferitele zone ale substanței corticale, precum și răspunsurile diferențiate ale zonelor la diferiți factori distructivi pledează în favoarea unei anumite independențe a zonei glomerulare față de zona fasciculoreticulară.

Adrenalectomia stîngă, însoțită de traumatizarea prin electrocoagulare a corticoadrenalei drepte la șoarece (428), traumatism care lezează capsula și țesutul cortical, este urmată de o regenerare epimorfotică. Regenerarea începe în zilele a 2-a — a 3-a și se termină între zilele 50 și 60. Procesele regenerative includ parenchimul și capsula. Țesutul cortical regenerează prin mitoze ale celulelor zonelor glomerulară și fasciculată externă, celule care supraviețuiesc șocului termic și care prezintă o dediferențiere extensivă. Ca urmare, zona glomerulară, precum și partea superficială a zonei fasciculate sînt direct implicate în regenerarea corticalei. Țesutul conjunctiv al capsulei se dediferențiază și joacă un rol activ în demarcarea părților necrotice și în morfogeneza regenerativă.

Scanned with OKEN Scanner

Cu toate că unii susțin că regenerarea are drept sursă țesutul capsular, majoritatea autorilor (65), (428), (505), (1421) consideră că regenerarea se face pe socoteala țesutului cortical restant (straturile profunde ale zonei glomerulare și cele superficiale ale zonei fasciculate) (fig. 37).

Fig. 37. — Regenerarea cortexului suprarenal la șoarece după 84 de ore de la amputare (după Grzybek).

a, țesut adrenal supraviețuitor; *b*, țesut conjunctiv pătrunzînd în capsulă; *c*, necroză.

Începutul și sfîrșitul regenerării corticalei suprarenale depind de specie, de vîrsta animalului și de modalitatea de traumatizare. Extinderea traumei și prezența țesutului necrotic rămas influențează rata procesului regenerativ.

Regenerarea ovarelor

Această regenerare a fost urmărită la triton (ARTEMIEVA, 1961, citată după (680)), precum și la iepuroaice, șobolance, șoricioaice și maimuțe (LIOZNER (679); ARTEMIEVA, 1959, 1960, citată după (678)). LIOZNER a arătat că ovarul mamiferelor are o capacitate de regenerare foarte mare. Face excepție ovarul iepuroaicelor, care are o capacitate de regenerare slabă, iar vătămările sale lasă urme ce persistă vreme îndelungată. ARTEMIEVA a constatat, după extirparea unui ovar întreg la șobolani și la șoareci, o hipertrofie compensatorie a ovarului pereche. LIOZNER a arătat, pe de altă parte, că regenerarea unui ovar nu are loc întotdeauna atunci cînd se îndepărtează jumătate din masa lui. Lipsa regenerării în cazul din urmă nu trebuie însă considerată ca un indiciu al lipsei de refacere, dat fiind că refacerea are loc sub forma hipertrofiei compensatorii.

ARTEMIEVA și, de asemenea, KARLOVA au constatat regenerarea ovarului prin restabilirea structurii și a funcției sale, cu cicluri genitale normale. În ovarele regenerate se observă un spor numeric al foliculilor primari. Regenerarea se face doar prin procese proliferative, lipsind hipertrofia celulară, caracteristică regenerării hipertrofice. La 15 luni de la lezare, în ovarul amputat apar însă tulburări atrofice sau distrofice.

Scanned with OKEN Scanner

Regenerarea peretelui uterin

În regenerarea peretelui uterin la șobolan (774) se constată că, la 5 zile de la lezare, leziunea se acoperă de țesut conjunctiv. La 12 zile apar elemente musculare tinere, iar la 14 zile se constată restabilirea unei structuri apropiate de cea normală.

Regenerarea testiculelor

Regenerarea testiculelor a fost urmărită la triton de către RAIȚINA (1959, citată după (678)), iar la șobolani și la maimuțe de către RAIȚINA, ARTEMIEVA și SIHAMIROV (citați după (678), (680)). ARTEMIEVA a demonstrat că regenerarea testiculului are loc prin intensificarea fenomenelor de diviziune celulară și prin proliferarea epiteliului germinativ. RAIȚINA a arătat că regenerarea parenchimului testicular este condiționată de integritatea albugineei. SIHAMIROV a stabilit că regenerarea testiculară este posibilă doar la animalele tinere. Tot SIHAMIROV a arătat că, în cazul cînd se extirpă în întregime un testicul, acesta nu regenerează. La locul secționării se formează o cicatrice. În cazul în care se extirpă un testicul și jumătate din celălalt testicul, se constată că, la două luni după intervenție, jumătatea restantă atinge greutatea și volumul unui testicul normal.

Regenerarea pancreasului

KULEȘOVA (citată după (680)) a stabilit că extirparea a 2/3 din pancreas duce la o regenerare a organului, sursa neoformării insulelor pancreatice fiind celulele acinoase și cele ale canalelor excretorii. SEGIDA (1962, citată după (680)) a constatat la cobai că, la 10 luni după operație, greutatea pancreasului descrește, țesutul insular se hipertrofiază și se dezvoltă insule gigante, iar glucoza sanguină rămîne deasupra valorii ei normale.

Regenerarea ganglionilor limfatici

La șobolani, această regenerare are loc fie după lezare (126), fie după necroza consecutivă ligaturii pediculilor vasculari (KOLOSNIKOVA, citată după (680)).

Regenerarea splinei

Regenerarea acestui organ se face prin regenerare hipertrofică (LIOZNER și KARLOVA, 1960, citați după (678)). S-a demonstrat de către KARLOVA că splina regenerată își păstrează în oarecare măsură capacitatea de a forma anticorpi. BABAIEVA (citată după (680)) a stabilit că hipertrofia celulară lipsește.

Regenerarea plămînilor

Se face tot prin regenerare hipertrofică. A fost urmărită la triton de către SOLOPAIEV (1957) și ROMANOVA (1959, ambii citați după (678). LIOZNER, BABAIEVA, ROMANOVA și KARLOVA (1963, citați după (680)), experimentînd pe plămînul mormolocilor, au demonstrat că amputarea unei jumătăți a lobilor conduce la o regenerare mai rapidă și mai completă decît amputarea

Scanned with OKEN Scanner

lobului întreg. Pe de altă parte, s-a stabilit o creștere a activității mitotice a țesuturilor pulmonare la mormoloci.

La mamifere, regenerarea plămînului a fost studiată pe șobolan. BIRKUN (citat după (680)) a constatat frecvent, în parenchimul din jurul focarelor scleroase, semne pentru o tendință reparatorie a țesutului pulmonar, ele constînd într-o veritabilă proliferare a elementelor musculo-elastice.

Modelele experimentale folosite în studiul regenerării plămînului se rezumă la extirparea unui lob pulmonar, la extirparea unui plămîn întreg sau la extirparea unui plămîn întreg și paralel a unui lob din celălalt plămîn. În acest din urmă caz se extirpă 63% din biomasa pulmonară și se constată o regenerare extrem de activă. După o lună de la intervenția operatorie, volumul și greutatea plămînului restant întrec de două ori volumul și greutatea plămînilor normali. Volumul alveolelor pulmonare se mărește de 3 — 4 ori, toate elementele de structură — epiteliale și conjunctive — regenerînd la fel de intens. Se pare însă că aceste alveole pulmonare hipertrofiate nu au aceeași eficiență funcțională ca cele normale (680).

ESIPOVA și KRINCIKEVA (citate după (680)) au demonstrat că procesul reparator al plămînului se manifestă prin semne de substituire a parenchimului pierdut. În fine, ROMANOVA (1962, citată după (680)) a arătat că regenerarea plămînului se efectuează prin proliferarea mitotică a țesutului conjunctiv interalveolar, prin hiperplazia vaselor de sînge și, mai ales, prin proliferarea și hipertrofierea alveolelor, ceea ce conduce la o creștere rapidă.

Regenerarea intestinului

ȘESTOPALOVA (1960, citată după (680)) a studiat regenerarea intestinului la șobolan. În rănile prin perforare ale peretelui intestinal, defectul se vindecă prin epitelializare și prin regenerarea țesutului conjunctiv și a mușchilor netezi. BOCHKOV (1959, citat după (678)) a urmărit regenerarea intestinală la cîine, constatînd că peretele intestinal este capabil de regenerare prin regenerare hipertrofică, precum și prin creșterea țesuturilor de la suprafața plăgii. Regenerarea ariei inițiale a mucoasei intestinului subțire este un rezultat al lărgirii, și nu al alungirii sale. Se produc o hipertrofiere a vilozităților și a criptelor, care cresc repede în lungime, precum și o augmentare a numărului vilozităților.

Regenerarea sistemului nervos central

Pești. Anumite cercetări (725), (1219) au stabilit posibilitatea regenerării măduvei la ciclostomi, care are loc, după lezare, la adulții de *Petromyzon* (1219) și la larvele de *Lampetra fluviatilis*, la care capacitatea de regenerare a măduvei este foarte mare. Se constată de asemenea regenerarea măduvei la elasmobranhiate (larvele de *Scylochinus canicula* (728)), regenerare ce își are sursa în celulele ependimare, care se divid și se plasează la nivelul bontului terminal al măduvei. Aceste celule devin celule nervoase ganglionare și dau naștere la fibre care fac legăturile între elementele conductoare. Regenerarea este completă din punct de vedere morfologic și fiziologic. Și la teleosteeni are loc regenerarea măduvei și a creierului terminal. Astfel, măduva regenerează la *Carassius carassius* (607), la *Carassius auratus* (861), la tinerii de *Lebistes reticulatus* (515) și la adulții de *Lebistes* (599). Regenerarea măduvei la pești este inițiată de migrarea celulelor ependimare (599), (725). S-a constatat și

Scanned with OKEN Scanner

regenerarea creierului terminal și a nervilor olfactivi la *Lebistes reticulatus* (727) și la *Carassius auratus* (622). La *Lebistes* se observă o capacitate remarcabilă de regenerare, mai ales în cazurile în care porțiunile postero-ventrale ale telencefalului și diencefalul sînt lăsate pe loc. Regenerarea își are sursa în celulele ependimare, care migrează din prima zi după amputare. Nervii olfactivi au și ei o mare capacitate de regenerare, formînd conexiuni cu regeneratul. După Kosciuszko (609), nervii olfactivi joacă un rol deosebit în regenerarea telencefalului, ca dealtfel și în dezvoltarea normală.

De aici concluzia că factorul fundamental în morfogeneza regenerativă a sistemului nervos central la pești îl constituie migrarea celulelor ependimare. Celulele stratului ependimar au o mare capacitate de diviziune și diferențiere, generînd celulele nervoase ale regeneratului. Caracterul embrionar pe care-l păstrează aceste celule le conferă potențialități ce se valorifică în cursul regenerării.

Capacitatea regenerativă a creierului la pești depinde și de calea pe care s-a făcut operația, precum și de mărimea secțiunii operatorii (1180).

Amfibii. Regenerarea sistemului nervos central a fost studiată la embrionii, larvele, precum și la animalele tinere și adulte de amfibii (66), (157), (260), (559), (560), (561), (562), (609), (871), (872), (874), (1007), (1103), (1178), (1180), (1182), (1183), (1184), (1244), (1406), (1407), (1413).

Regenerarea sistemului nervos central al amfibiilor nu constă numai în creșterea fibrelor nervoase, ci și în apariția de noi neuroni, care provin din „celulele germinale" prezente în pătura ependimară sau subependimară (560), (727), (1182), (1184). O bună, dar limitată, capacitate de regenerare este prezentă la embrionii, larvele sau animalele tinere postmetamorfotice (66), (157), (260), (600), (871), (1180), (1182), (1244). La adulți nu are loc sau se constată doar o regenerare foarte slabă a țesutului nervos (871), (1103), (1406), (1407), dar această constatare nu poate fi generalizată.

Aceste observații sînt valabile la urodele, la care măduva spinării, precum și creierul anterior și mijlociu au capacitate de regenerare (157), (260), (871), (872), (874), (1103), (1406), (1407), (1413). La *Ambystoma* și la *Triton*, regeneratele creierului anterior au un volum mai redus decît cele ale creierului anterior al animalelor de control (1407). La *Triton* (1103) se constată doar regenerarea parțială a creierului anterior.

Regenerarea totală sau parțială a creierului anterior are loc și la mormolocii de anure *(Xenopus)* (559), (560), (561), (562), (609), (1182), (1183), dar numai în anumite condiții (prezervarea plexului coroid al ventriculului III și a creierului mijlociu).

La mormolocii tineri de *Xenopus* (stadiile 47—48) se constată o mare putere de regenerare a creierului anterior; aceasta începe imediat după amputare și conduce, în scurtă vreme, la un regenerat structurat asemănător cu creierul normal, în regenerat fiind prezente celule nervoase și gliale, ventricule ce se continuă cu ependimul, nervi olfactivi bine dezvoltați și conexați de creier. Porțiunea anterioară a regeneratului se diferențiază ultima (1182). Amputarea creierului anterior la 10 zile după ecloziune este însoțită de o regenerare puternică și rapidă (1182), iar la 20 de zile după ecloziune de o regenerare mai lentă, deseori constatîndu-se prezența unui singur emisfer cu unul sau două ventricule mici, dar mai frecvent cu ventricule multiple. De asemenea, regeneratele au un volum mai redus decît al creierului animalelor de control (562), (609), (1182) (fig. 38—40). Procesul de regenerare a

Scanned with OKEN Scanner

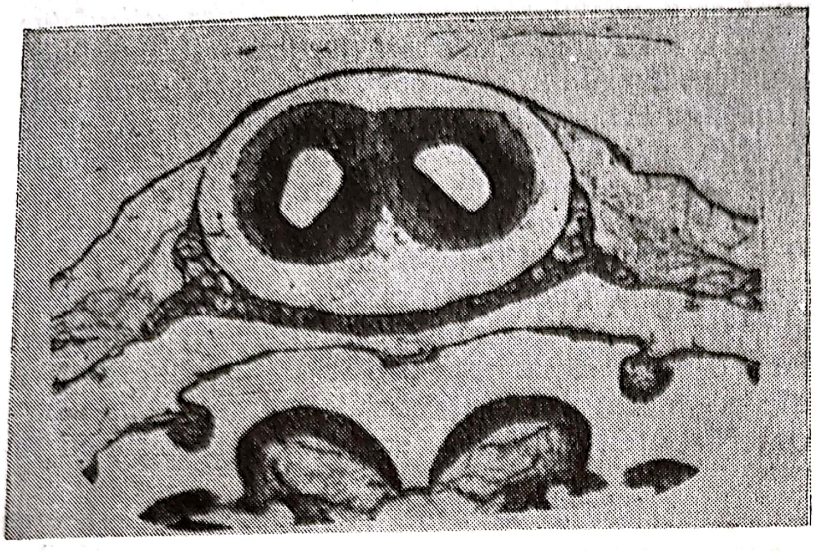


Fig. 38. — Telencefalul mormoloculuí de *Xenopus* în stadiile 47—48 (după Srebro).

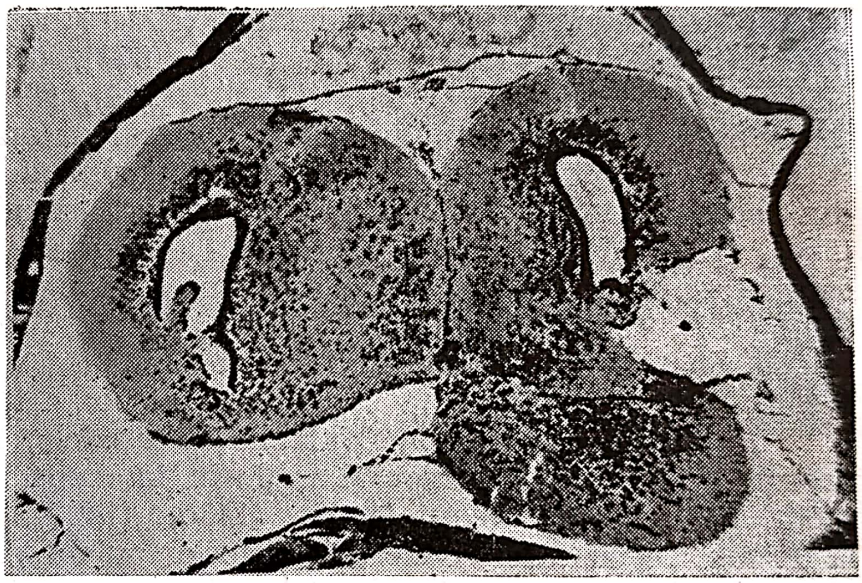


Fig. 39. — Regenerarea telencefalului mormoloculuí de *Xenopus* la 8 săptămîni după amputare (după Jordan).

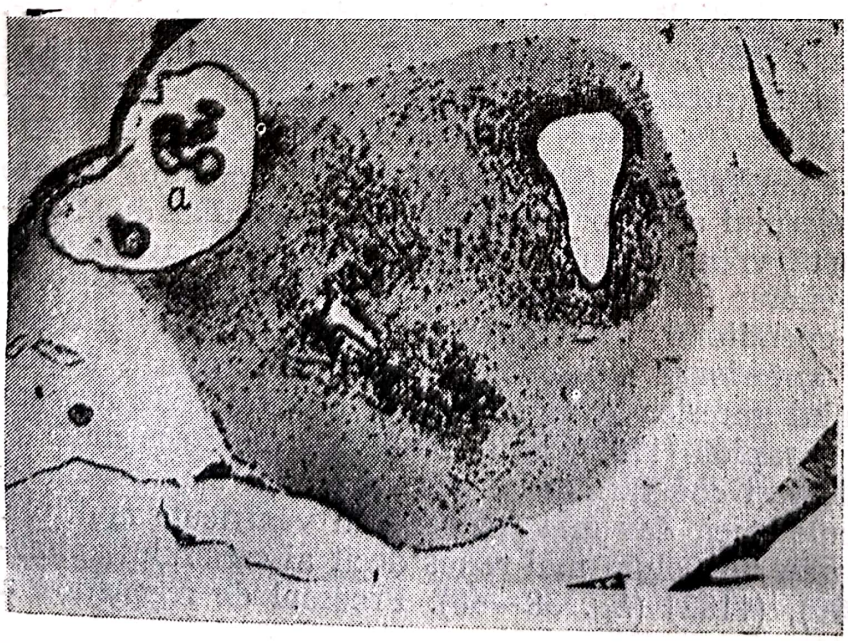


Fig. 40. — Regenerarea asimetrică a telencefalului la mormolocii de *Xenopus* operați în ziua a 20-a a dezvoltării; 1 an după operație (după Jordan).

Scanned with OKEN Scanner

creierului anterior la mormolocul de *Xenopus* este complet la 20 de zile după extirpare (609).

La animalele postmetamorfotice tinere, capacitatea de regenerare a creierului anterior nu se pierde după metamorfoză, regenerarea fibrelor nervoase fiind încă foarte bună după secționarea completă a emisferelor. Procesul de regenerare este însă mult mai lent, ceea ce conduce la concluzia că formele larvare au o capacitate mai mare de regenerare a creierului anterior decît indivizii postmetamorfotici. Și aici, regeneratele sînt mici, apărînd deseori un singur emisfer cu unul sau două ventricule mici, dar mai frecvent numeroase vezicule mici (562).

Regenerarea creierului terminal la adulții de *Xenopus*, după îndepărtarea emisferelor sau după o simplă secționare, este abortivă și lipsește complet în zone foarte largi ale creierului. În anumite cazuri se produce regenerarea pe mici porțiuni. Simpla secționare duce la o regenerare limitată a fibrelor nervoase numai în cazurile cele mai favorabile (1184).

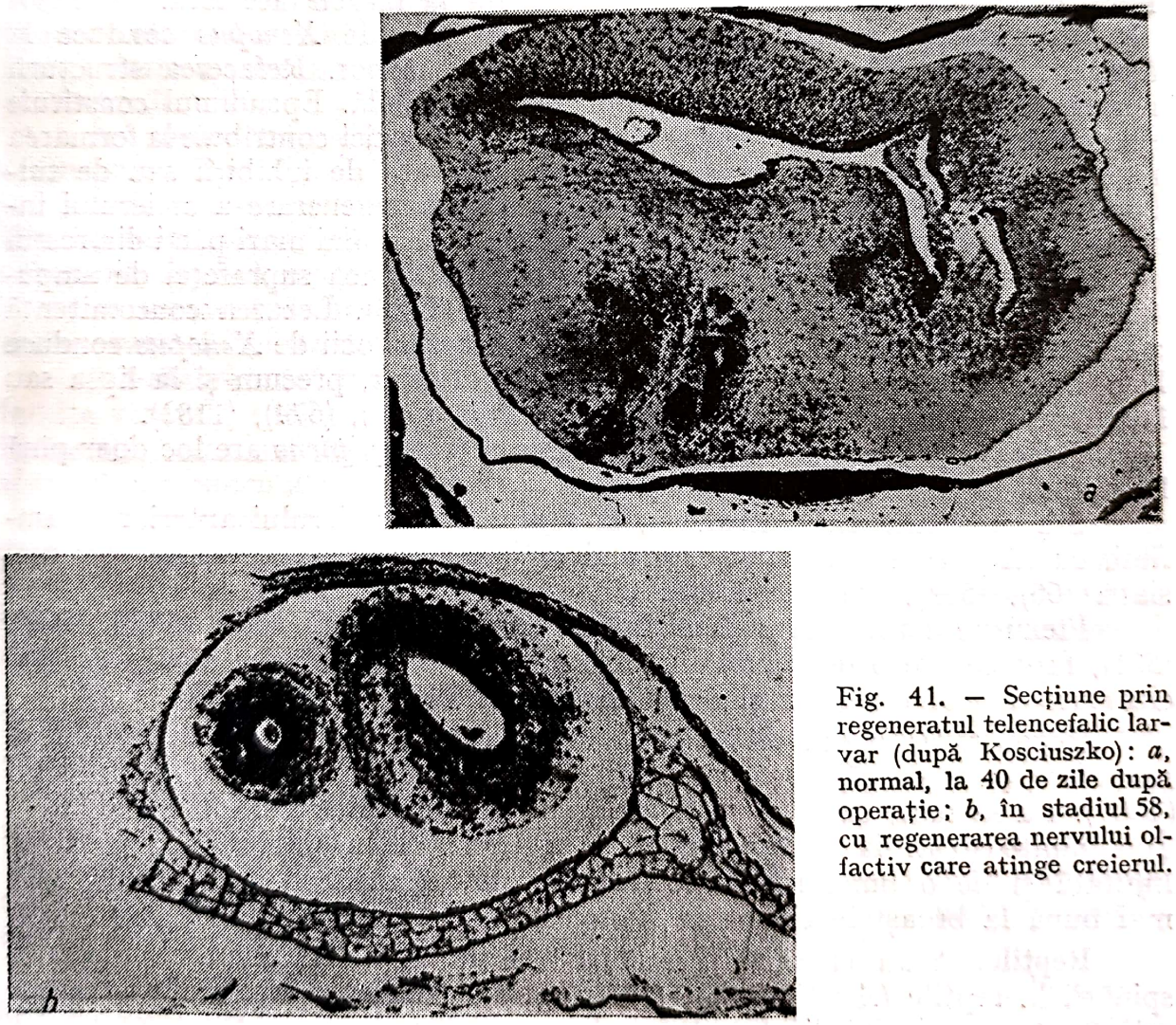


Fig. 41. — Secțiune prin regeneratul telencefalic larvar (după Kosciuszko): *a*, normal, la 40 de zile după operație; *b*, în stadiul 58, cu regenerarea nervului olfactiv care atinge creierul.

Așa cum am arătat, regenerarea creierului anterior are loc pe socoteala ependimului, dar și a celulelor nervoase ale organului și nervilor olfactivi. S-a constatat că regeneratul este întotdeauna conectat de organul olfactiv prin intermediul nervilor olfactivi (562), (1103), (1182), (1406), (1407) (fig. 41). Cînd organul olfactiv este complet sau parțial extirpat, are loc o

Scanned with OKEN Scanner

slabă regenerare a creierului anterior (609). Dealtfel, extirparea placodelor nazale la larvele de axolotl conduce la o întîrziere în dezvoltarea creierului anterior, ceea ce permite concluzia că dezvoltarea normală a creierului anterior cere prezența organului olfactiv (157). Rolul nervilor olfactivi este de asemenea important în regenerarea creierului anterior, regenerare care are loc numai atunci cînd sînt prezenți acești nervi (562), (609), (727).

Cercetările efectuate au arătat că celulele nervoase ale organului olfactiv care migrează către creier formează o sursă importantă de material regenerativ, constituind pătura granulară a regeneratului (609), (1182), (1406), (1407).

Pe de altă parte, s-a stabilit și importanța piei mater în procesul regenerativ al nervilor olfactivi. Cicatrizarea prea rapidă a piei mater împiedică procesul regenerativ, formînd un obstacol în regenerarea acestor nervi (919), (1406), (1407).

Extirparea a 3/4 din creierul anterior nu afectează creșterea și metamorfoza anurelor, atunci cînd este executată la larvele acestora.

Extirparea creierului intermediar la larvele de *Xenopus* conduce la o regenerare mai slabă decît cea a creierului anterior. Refacerea structurii normale a acestei porțiuni a creierului este imposibilă. Ependimul constituie și aici sursa neuroblastelor regenerative, iar nervii optici contribuie la formarea regeneratului. Această extirpare este uneori legată de inhibiții sau de tulburări în dezvoltarea creierului anterior. O bună regenerare a creierului intermediar depinde de păstrarea, pe cît posibil, a celei mai mari părți din restul encefalului. Această regenerare depinde și de mărimea suprafeței de amputare; ea are loc și după extirparea hipofizei (1183). Lezarea concomitentă a creierului intermediar și a celui anterior la mormolocii de *Xenopus* conduce la o întîrziere în creșterea și dezvoltarea animalelor, precum și la lipsa sau la regenerarea foarte slabă a creierului anterior (560), (674), (1182).

Regenerarea creierului la mormolocii de *Rana pipiens* are loc doar pînă în stadiul 15 al dezvoltării (1244).

S-a constatat, în general, că, în regenerarea creierului anterior la amfibii, cu cît partea amputată este mai extinsă, cu atît regenerarea este mai slabă (66), (562), (1180), (1182).

Plexurile coroide și epifiza amfibiilor pot regenera total (559), (560), (561), fapt ce are o deosebită importanță, dat fiind că de prezența acestor elemente depind creșterea și dezvoltarea normală a mormolocilor.

Regenerarea măduvei spinării este mai puternică la urodele decît la mamifere, cu toate că regenerarea fibrelor nervoase este limitată (871), (876), (1007). Ea se face, ca și la pești, pe calea diferențierii celulelor ependimare. În anumite cazuri, la *Xenopus*, măduva secționată este capabilă de regenerare limitată și de o bună restituție funcțională. Restituția funcțională este mai bună la broaștele tinere de *Xenopus* decît la adulții de *Rana pipiens*.

Reptile. S-au efectuat cercetări referitoare la regenerarea măduvei spinării la reptile (*Anolis* (286), (1120)) și s-a constatat că măduva regenerativă este constituită din tubul ependimar, fibre nervoase și țesut conjunctiv meningeal. Regiunea distală a măduvei spinării în creștere prezintă la început doar tubul ependimar, care este relativ lipsit de axoni. Acest tub conține deja canale situate între celulele ependimare, canale care permit proliferarea celulelor ependimare. La capătul proximal al regeneratului există fascicule de axoni nuzi cu originea în porțiunea veche. Aceste fibre cresc

Scanned with OKEN Scanner

ulterior, ependimul servind drept călăuză pentru fibrele nervoase în creșterea lor distală. Ependimul determină deci orientarea și organizarea fibrelor descendente în procesul lor regenerativ și are rolul de a stimula troficitatea necesară regenerării măduvei.

Păsări. Deși unii autori neagă posibilitățile de vindecare a defectelor nervoase în perioada embrionară, colectivul de cercetători români condus de B. MENKES confirmă capacitatea de regenerare a sistemului nervos central la embrionul de pasăre (760), (761), (762).

Astfel, în caz de lezare a stratului ependimar se poate vorbi de regenerare cu restituție completă a structurii distruse experimental. Distrugerile sînt urmate de reorganizarea substanței medulare și de regenerarea stratului ependimar, apărînd canale ependimare multiple cu aspect teratoid, căptușite cu celule caracteristice. Fiecare canal ependimar prezintă o dispoziție regulată a celulelor ependimare, înconjurate de o manta de neuroblaste. Regeneratele provin de la capetele măduvei rămase nelezate sau de la eventualele resturi ale măduvei ce nu au fost distruse. Se pare că procesul de reorganizare a țesutului nervos pornește cu precădere de la capătul cranial al leziunii.

În urma termocauterizărilor segmentare ale tubului neural s-a constatat:

— formarea de trunchiuri emise de capătul central al măduvei, care, după ce au parcurs o parte din canalul rahidian, se îndreaptă către ganglionii rahidieni, intrînd în constituția nervilor rahidieni;

— formarea de trunchiuri de legătură între cele două capete ale măduvei, care delimitează defectul experimental;

— formarea de trunchiuri cu totul atipice, care, pornind din circumferința ventrală a măduvei, pătrund în sclerotomul prevertebral și se reîntorc în canalul rahidian. Asemenea trunchiuri au fost observate și în mieloschizisurile experimentale și spontane la embrionul de găină.

În urma necrozei experimentale produse la nivelul stratului ependimar și al părților centrale ale măduvei, apare activitatea mitotică a neuroblastelor din straturile profunde ale mantalei. Stimularea mitozelor se realizează pe baza metabolizării nucleo-proteinelor și a acizilor nucleici proveniți din materialul necrotic.

Dacă ependimul prezintă posibilități de regenerare și de hiperplazie, în schimb nu au putut fi observate regenerări complete ale defectelor măduvei sau creierului embrionar.

Mamifere. Regenerarea sistemului nervos central la mamifere a fost studiată de unii autori (919), (1044). S-a constatat că măduva spinării nu regenerează și că această lipsă a regenerării măduvei la mamifere este datorată diferențierii avansate a celulelor ependimare, care își pierd potențele embrionare pe care le au la vertebratele inferioare (728).

Se pare că, în extirparea unor părți ale emisferelor cerebrale la mamiferele adulte, nu are loc o regenerare, pe cînd la animalele tinere se constată uneori regenerarea țesutului nervos. Astfel, unele cercetări au demonstrat regenerarea părților extirpate ale emisferelor la puii de șoarece, șobolan, pisică și cîine, în care caz țesutul regenerat prezintă un număr mai redus de celule nervoase și nevroglice, iar fibrele nervoase au o stratificare anormală. Unele experiențe efectuate pe pisicile tinere, constînd din excizii ale corticalei lobului occipital sau parietal, au stabilit absența proceselor reparatorii ale

Scanned with OKEN Scanner

sistemului nervos, dar și faptul că regiunea defectă este, uneori, umplută cu un țesut nervos adiacent. În ambele emisfere se constată o diviziune amitotică intensivă a neuronilor. Mitoze, deseori abortive, au loc la marginea leziunii. Celule de tip neuroblastic sau neuronal se diferențiază treptat din celulele nediferențiate situate în pătura subepitelială și în substanța albă. Substanța cenușie prezintă de asemenea celule slab diferențiate de același tip. În capsula conjunctivă din jurul leziunii se constată apariția de celule pseudonervoase, induse din poliblastele rezultate în urma dezintegrării țesutului nervos.

În concluzie, aceste cercetări dovedesc regenerarea fiziologică a scoarței, regenerare care are loc printr-o diviziune amitotică și prin diferențierea celulelor de tip cambial (919).

Regenerarea nervilor

În urma secționării sau a strivirii fibrelor nervoase, se constată degenerarea acestora, care poate fi sau nu urmată de regenerare. După secționarea unei fibre nervoase, extremitățile ei periferice degenerează. Acest tip de degenerescență, cunoscut sub denumirea de degenerescență waleriană, este caracterizat prin pierderea excitabilității fibrei, prin fragmentarea neurofibrilelor, prin dezagregarea și fragmentarea mielinei. Celulele Schwann fagocitează fragmentele de axon degenerate, precum și pe cele de mielină. Aceste celule ale tecii Schwann se înmulțesc prin diviziune, o parte devenind macrofage, iar restul formînd benzi înguste, denumite bandeletele Büngner, care au un rol deosebit în regenerare. În cazul în care regenerarea nu are loc, la locul leziunii celulele Schwann proliferează extrem de mult, formînd o tumoră, numită „schwanom de amputație".

Pericarionul înregistrează, la rîndul lui, suferința fibrei nervoase lezate. La nivelul său se constată fenomene de degenerescență (degenerescență retrogradă), a căror intensitate depinde de gradul de degenerescență a fibrelor lezate. În orice caz se instalează cromatoliza (topirea) corpusculilor Nissl, corpul celular se umflă, citoplasma devine mai vîscoasă, nucleul se deplasează spre periferie, enzimele oxidative (citocromoxidaza și succindehidrogenaza) își sporesc activitatea.

Regenerarea fibrelor nervoase are loc prin creșterea bandeletelor Büngner de la nivelul celor două capete ale fibrei nervoase secționate. Bandeletele se unesc între ele și refac teaca Schwann. În interiorul acestei teci va crește neuritul. Neuritul frînează proliferarea celulelor Schwann, care, la rîndul lor, formează teaca de mielină. Astfel, cu o viteză de creștere de 1—3 mm în 24 de ore, fibra nervoasă se reface structural și funcțional.

În cazul în care la locul leziunii fibrei nervoase pătrunde țesut conjunctiv din teaca Henle (endonervală), regenerarea fibrei nervoase este mult stînjenită, formîndu-se o pîslă fibroasă bogată, care se opune trecerii neuritelor. Neuritele cresc totuși, se îngrămădesc și, împreună cu tecile Schwann, formează un așa-numit „nevrom de cicatrice sau de pseudoregenerare" (851).

Regenerarea ochiului și a componentelor sale

Este știut că o parte a ochiului se formează, la embrion, din vezicula optică. Or, această veziculă este capabilă de regenerare, la embrionul de amfibii, independent de cristalin sau de creier, cu condiția să nu fie complet extir-

Scanned with OKEN Scanner

pată (SPEMANN, 1901, KING, 1905, BELL, 1907, LEWIS, 1907, FESSLER, 1920, ADELMANN, 1929, citați după (1)). La urodele, ochiul regenerează în stare adultă atunci cînd o porțiune a globului ocular rămîne pe loc (COLUCCI, 1891, WACHS, 1920, SCHAXEL, 1921, citați după (1)).

În ceea ce privește *regenerarea cristalinului* se constată că anumiți pești și anumite specii de amfibii urodele, în special cele din genul *Triturus*, au capacitatea de a regenera organul cristalinian după extirpare.

Vezicula optică, la început inductoare în ontogeneza cristalinului, devine țesutul reactiv în regenerare. Ea are deci atît capacități inductoare primare, cît și potențialități regenerative.

Cristalinul vertebratelor poate regenera prin două procese foarte diferite, și anume:

1) reconstruirea parțială, plecînd de la fragmente de epiteliu cristalinian rămase pe loc. Această facultate există la majoritatea vertebratelor, chiar adulte, dar nu conduce decît la o proliferare anarhică a fibrelor cristaliniene, organizarea și funcția cristalinului nefiind decît parțial restabilite;

2) regenerarea wolfiană, pornind de la iris. Acest proces intervine după extirparea cristalinului și dă naștere unui organ optic perfect. La vertebratele adulte, acest mod de regenerare este apanajul exclusiv al unor pești și al unor urodele. La vertebratele mai evoluate (anure, păsări) nu apare decît în stadiile foarte timpurii ale dezvoltării și în limite foarte înguste. La vertebratele și mai evoluate (reptile, mamifere), regenerarea wolfiană nu poate fi obținută nici chiar la embrionii tineri (1059).

Regenerarea cristalinului la larvele de urodele poate pleca de la ectodermul tegumentar, de la marginea cupei optice, de la stratul pigmentar al retinei și chiar din peretele creierului (SPEMANN, 1901, 1902, LEWIS, 1907, VON UBISCH, 1925, 1927, BELL, 1907, citați după (1)), precum și din epiteliul irian (1059). La larvele de anure, poate avea aceeași origine (ALBERTI, 1922, WOERDEMAN, 1922, PASQUINI și DELLA MONICA, 1929, citați după (1), (1059)), dar poate proveni și din țesutul cornean *(Xenopus)* (172), (343), (344), (850).

La animalele adulte, regenerarea cristalinului a fost studiată de numeroși autori (COLUCCI, 1891, WOLFF, 1895, MÜLLER, 1896, FISCHEL, 1898—1902, BRACHET și BENOIT, 1899, WACHS, 1914, OGAWA, 1921, BECKWITH, 1927, citați după (1), precum și de alți autori citați după (1059)), care au constatat că irisul, țesutul cornean și epiteliul pigmentar al retinei sînt competente pentru a forma un regenerat cristalinian (348), (535), (536), (980), (1059), (1234).

Formarea regeneratului cristalinian din cornee (348) are loc prin dezvoltarea sa din stratul celular intern sau extern al corneei, apărînd inițial ca un mic mugure celular în regiunea mediopupilară a corneei. Mugurele se organizează apoi sub forma de vezicută, din al cărei perete posterior apar fibrele cristaliniene primare. Urmează producerea de fibre cristaliniene secundare din regiunea ecuatorială a veziculei și apoi detașarea regeneratului în spațiul pupilar.

În ceea ce privește originea iriană a cristalinului, s-a constatat la pești că întregul iris participă la regenerarea organului, pe cînd la urodele numai irisul dorsal. În cazul acelor urodele care și-au pierdut capacitatea de regenerare, irisul își pierde, la rîndul său, competența funcțională.

Scanned with OKEN Scanner

Regenerarea cristalinului necesită dediferențierea prealabilă a țesuturilor de origine ale noii structuri. La vertebratele superioare, ea este cu atît mai facilă cu cît stadiul de dezvoltare ontogenetic și filogenetic este mai tînăr. Într-adevăr, la irisul urodelelor, dediferențierea este mult mai ușoară, ceea ce permite regenerarea cristalinului pe această cale.

Regenerarea cristalinului pe cale iriană (fig. 42) începe prin formarea unui șanț între cele două lame ale irisului și prin îngroșarea lamei interne.

Fig. 42. — Stadiul VIII de regenerare a cristalinului la adultul de triton (după Takata și colab.).

Această fază inițială este urmată de dediferențierea irisului, care se traduce prin depigmentarea sa. În celulele marginii pupilare dorsomijlocii a irisului apar depigmentări și, prin diviziunea mitotică continuă a acestui țesut, se formează o veziculă cristaliniană. Celulele lamei interne a veziculei cristaliniene încep să se alungească pentru a forma fibrele cristaliniene primare. Ulterior, se constată proliferarea prin mitoză a celulelor dediferențiate din ariile mai îndepărtate ale veziculei cristaliniene, celulele-fiice care rezultă din această proliferare migrînd către fibrele cristaliniene primare. În zona ecuatorială, aceste celule încep să se alungească, diviziunea lor încetează și ele împrejmuiesc fibrele primare printr-un manșon de fibre cristaliniene secundare. Atunci cînd crește în volum, cristalinul se detașează de epiteliul irian, iar epiteliul cristalinian rămîne ca un epiteliu germinal, care produce o augmentare continuă de fibre cristaliniene secundare (982), (1059).

În prezent este bine stabilit că anumiți factori difuzibili retinieni sînt indispensabili formării inițiale a regeneratului cristalinian. După unele ipoteze, anumite proteine specifice (α-cristalina?) elaborate de retină ar putea constitui, pentru iris, sursa de inducție a regenerării unui nou cristalin. Anumite cercetări par să indice că factorii retinieni se epuizează după extirparea cristalinului, ceea ce face să se presupună că ei ar fi elaborați mai activ în acest moment. În cazul urodelelor care și-au pierdut capacitatea de regenerare a cristalinului, irisul și-ar pierde competența funcțională de a răspunde la factorii retinieni (1059).

Scanned with OKEN Scanner

Cercetările efectuate de DABAGUIAN și ȘEREȘEVA (1966) pe larvele de *Rana esculenta* au demonstrat că *regenerarea retinei* începe în zilele 3—4 după extirpare pe cale chirurgicală. Pătura internă a irisului servește ca sursă celulară pentru regenerare. Creșterea și diferențierea regeneratului se fac începînd de la marginea cupei optice și mergînd către centrul ei.

Regenerarea cartilajului

Așa cum s-a mai arătat, în cazul amputării membrelor sau cozii la amfibii, cartilajul este primul țesut care se diferențiază în regenerare. La animalele adulte, procesul de regenerare a cartilajului este lent și are loc pe seama activității pericondriului. În cazul în care cartilajul este lezat sau rupt, rana este invadată de către țesutul conjunctiv pericondral, care se transformă progresiv în cartilaj. Deci creșterea este apozițională și reclamă prezența pericondriului. Regenerarea cartilajului prin creștere interstițială a fost de asemenea observată, dar foarte rar. În cele mai multe cazuri de ruptură de cartilaj, fragmentele se unesc prin țesut fibros dens, care, parțial, poate fi înlocuit prin țesut osos (851).

Regenerarea suprafețelor articulare

Lezarea suprafețelor articulare la cîine (453) a arătat că țesutul de granulație ce se formează pe suprafața articulară este condrogen, pe cînd cel care se formează pe capsula articulară nu este condrogen.

Regenerarea mușchilor

Regenerarea mușchilor striați poate fi consecința injuriilor de ordin fizic, chimic, chirurgical sau a miopatiilor. Fibrele musculare striate prezintă în anumite condiții o importantă capacitate de regenerare la vertebrate (de la cele mai puțin evoluate pînă la om). La toate clasele de vertebrate — larve și adulți — se constată această potențialitate de regenerare (7), (16), (17), (22), (59), (84), (86), (90), (122), (196), (248), (355), (369), (370), (483), (626), (627), (632), (653), (673), (755), (839), (877), (984), (985), (1097), (1098), (1186), (1249), (1355), (1446).

Procesul regenerativ al mușchilor striați este în funcție de specie, de vîrsta animalului, de factorii care au produs lezarea musculară, de păstrarea vitalității unei porțiuni a fibrei musculare care va servi drept punct de plecare a regeneratului, inervației, vascularizației și nutriției generale.

În regenerarea mușchilor striați se urmărește acest proces în regenerarea organelor externe amputate, precum și regenerarea propriu-zisă a mușchiului striat atunci cînd doar acesta este lezat.

Regenerarea musculară în regenerarea apendicelor externe a fost studiată la larvele și la adulții de amfibii (839), (1249), constatîndu-se că ea depinde de prezența mușchilor din bontul amputat și conduce la refacerea musculaturii complete a membrului amputat.

În regenerarea mușchiului striat, atunci cînd este lezat numai mușchiul, se constată că regeneratul muscular este de obicei mic (de cîțiva milimetri), fiind completat de țesut conjunctiv. Regenerarea musculară nu se rezumă nu-

Scanned with OKEN Scanner

mai la proliferarea mioblastelor vechi, ci are și un puternic caracter organotipic (673).

S-a constatat că sarcolema joacă un rol de seamă în procesul de regenerare, restituția completă a fibrelor musculare fiind dependentă de integritatea sarcolemei, care, dacă este lezată, determină o regenerare incompletă, abortivă.

Aceste ultime considerații nu sînt însă întotdeauna generale. S-a stabilit că regenerarea musculară se poate face pe o lungime considerabilă (în mușchii distrofici și în polimiozite (7)). Legarea mușchiului tibial anterior la iepure produce ischemie și necroză, care sînt urmate, la 1—3 luni, de o reparație completă a mușchiului scheletal. În zdrobirea mușchilor la lilieci (195), (196) se constată că fibrele musculare scheletice au o remarcabilă putere de regenerare, apărînd o restaurare numerică completă a fibrelor musculare și chiar fibre musculare în surplus. La aceste animale, mușchii scheletici pot suporta leziuni repetate, urmate de o recuperare completă. Pe de altă parte, tulburările celulare sînt mai mari, constînd dintr-o alterare a sarcoplasmei și a mionucleilor, fără afectarea consecutivă a țesutului conjunctiv și a membranelor bazale, ultima fiind o condiție necesară pentru a favoriza o regenerare completă.

Procesul de regenerare musculară se realizează, în esență, prin două mecanisme, care sînt încă mult discutate (877): a) prin hiperplazia capătului distal al fibrei lezate (mecanism continuu); b) prin proliferarea unor celule mononucleate izolate, denumite mioblaste (mecanism discontinuu). În ultimii ani, aceste mecanisme n-au fost însă privite ca două modalități diferite, ci ca două posibilități reale, existente în regenerarea musculară, avînd loc cînd una, cînd cealaltă, după natura injuriei, după zona de injurie sau după momentele stadiale diferite ale regenerării.

Regenerarea discontinuă este asigurată de elemente plurinucleate, care se diferențiază în fibre, mai mult sau mai puțin normale (985). Inițial, în fibra musculară degenerată apar formațiuni denumite *celule-satelit* (fig. 43), situate în membrana sarcolemică și separate de sarcoplasmă printr-o membrană plasmatică proprie, provenind din sarcoplasma nucleată. Aceste celule-satelit devin libere, proliferează și augmentează puternic în aria de injurie, fiind foarte frecvente în mușchiul uman distrofic sau polimiozitic (1098). Ele ar reprezenta niște mioblaste inactive, care activează în cursul regenerării, dînd naștere altor celule, denumite *mioblaste*, care se dezvoltă la periferia fibrei musculare lezate. Mioblastele mononucleare, de origine pur musculară, au un aspect bazofil și o formă alungită, nuclei proeminenți incluși într-un strat subțire de sarcoplasmă, care conține numeroși ribosomi, de unde aspectul lor puternic bazofil. Sursa mioblastelor ar fi deci celulele-satelit (122), (196), (483), (796), (1097), (1355). Dispariția celulelor-satelit, paralel cu apariția mioblastelor, susține ipoteza menționată (626), (755), (1097), (1098).

Urmează o fază în care mioblastele augmentează puternic și apoi fuzionează între ele pentru a constitui *miotubi sincițiali*, adică celule multinucleate cu aspect de panglici lungi, cu un diametru mai îngust decît al fibrei adulte. Fuziunea mioblastelor mononucleare conduce la augmentarea numărului de nuclei din miotubii sincițiali. În centrul miotubilor se află nuclei rotunzi, care sînt dispuși în monom, într-o sarcoplasmă bazofilă. Acești nuclei sînt aglomerați spre partea proximală a panglicii. Miotubii sincițiali se transformă în *sarcoblaste* prin apariția unei umflături ce se dezvoltă la capătul lor, umflă-

Scanned with OKEN Scanner

tură care constituie un mugure terminal caracteristic. În sarcoblaste are apoi loc diferențierea *miofibrilelor*. Procesul de diferențiere a miofibrilelor, care se formează la periferia sarcoblastului, este legat de dispunerea ordonată a ribosomilor în celula musculară pe cale de formare. Cînd sarcoblastul se maturează într-o fibră adultă, au loc o serie de modificări, ca schimbarea po-

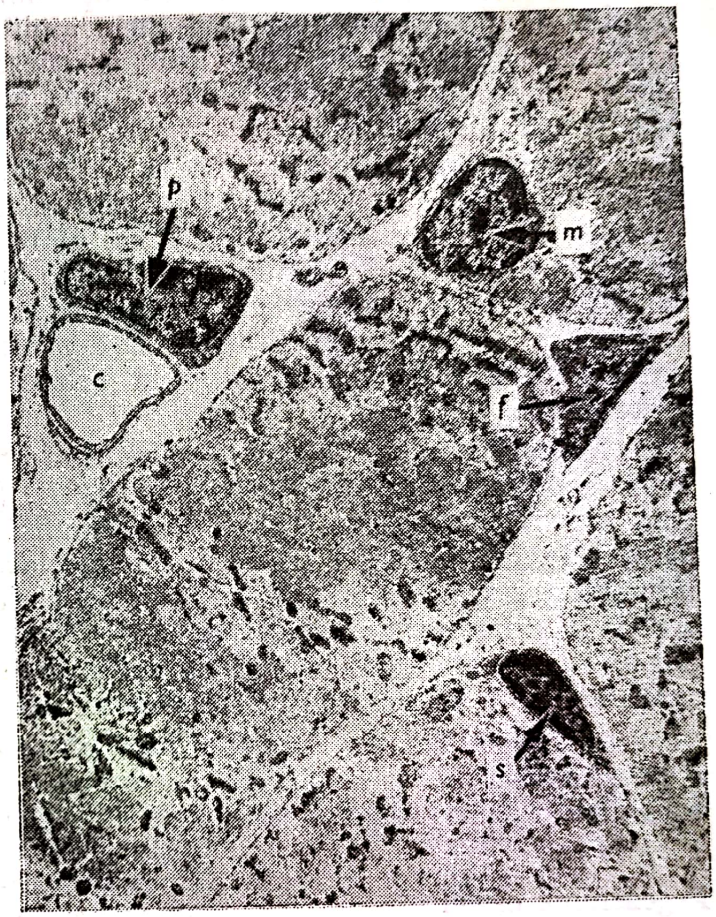


Fig. 43. — Regenerarea musculară la lilieci. Electronomicrofotografie (după Church).

s, celule-satelit; *f*, fibroblaste; *m*, mionuclei; *p*, pericit; *c*, capilar.

ziției nucleilor (care devin periferici), îngroșarea, alungirea și augmentarea numărului miofilamentelor, precum și înmulțirea și condensarea mitocondriilor în partea centrală (17), (59), (84), (86), (90), (355), (483), (627), (633), (985), (1355), (1357).

Timidina marcată, administrată după leziunea musculară, se regăsește, la o oră după injecție, în nucleii sarcoblastici și apoi în noile fibre (90), (627), (1355), (1357). Studiul histoautografic al încorporării timidinei marcate H^3 din cursul regenerării mușchiului striat la șoarecele adult permite ca în formarea sarcoblastelor să se distingă trei faze, și anume:

1) La 2 ore după operație apare o mare cantitate de timidină în nucleii porțiunilor terminale ale mușchilor secționați. Înainte de 72 de ore după lezarea musculară, se constată că, la sfîrșitul acestei perioade, indicele mitotic este ridicat și marcajul celulelor mononucleate este mai frecvent. Sarcoblastele sînt rare și nu conțin nuclei marcați.

2) În stadiul 72—95 de ore, există o formare masivă de sarcoblaste, care încorporează rapid o anumită cantitate de timidină marcată într-un

Scanned with OKEN Scanner

mare număr de nuclei ce provin în urma unei diviziuni mitotice a celulelor libere mononucleate (mioblaste).

3) După 95 de ore, sarcoblastele își continuă dezvoltarea fără ca nucleii să mai încorporeze timidina (985), (1446).

Spre deosebire de regenerarea discontinuă, regenerarea continuă are loc prin formarea unor muguri sarcoplasmici din capetele fibrei musculare lezate, ca o înmugurire directă, prin amitoză, a fibrei musculare. Mugurii musculari, realizați pe această cale, se unesc între ei, realizînd continuitatea fibrei. Ei se vor diferenția ulterior după aceleași mecanisme ca și în cazul regenerării discontinue.

Regenerarea mușchilor netezi. Cercetări efectuate pe țesutul muscular neted din stomacul de găină, transplantat în regiunea bicepsului, au arătat că acest țesut degenerează în cea mai mare parte și este resorbit. Totuși, la nivelul părții periferice, anumite elemente puțin diferențiate ale transplantului supraviețuiesc. Odată cu augmentarea vaselor sanguine în regenerat, aceste celule se reproduc rapid și se dezvoltă, dînd naștere, în transplantul de 2 săptămîni, la mioblaste și la celule musculare netede noi, neoformate (793).

Regenerarea mușchiului cardiac. Au fost provocate leziuni ale miocardului la șobolani și la pisici (54), (55), (497), (528), (529), (920), (999), (1032) prin electrocauterizare, incizii sau împunsături. La șobolanii adulți apar, în zona lezată, mici insule de fibre musculare neoformate. Ulterior însă, sub influența țesutului conjunctiv compact, fibrele musculare neoformate se dezagregă și leziunea se transformă într-o cicatrice. Totuși, mușchiul cardiac dispune de posibilități reduse de regenerare spontană, iar formarea de cicatrice poate fi împiedicată prin anumite substanțe sau extrase tisulare (920).

La pisicile tinere (1—2 zile după naștere), regenerarea se produce între a 4-a și a 20-a zi, iar la pisicile mature are loc mult mai tîrziu (după 2 luni). În ambele cazuri, regenerarea este soldată prin apariția de cicatrice.

Regenerarea osului

Osul regenerează în cazul unei fracturi. La nivelul fracturii se organizează, în scurt timp, un „hematom intrafracturar", care cuprinde lame osoase distruse, resturi de mușchi, periost, grăsimi, resturi de tendoane, vase rupte și sînge. Această formațiune (calus sanguin fibrinos) este curînd invadată de un țesut vasculo-conjunctiv de granulație, bogat în celule mezenchimale. Coagulul hemoragic se va transforma într-un calus conjunctiv umed, în care are loc osificarea. Se formează astfel un calus osos, care suferă remanieri ulterioare. Consecința acestor remanieri este transformarea osului spongios cu travee subțiri și cu celule mari în os lamelar.

Pe scurt, regenerarea osului decurge în patru perioade:

— formarea calusului fibrinos;

— formarea calusului conjunctiv prin pătrundere și neoformație conjunctivă;

— metaplazia conjunctivă, respectiv osificarea treptată a calusului conjunctiv;

— remanierea calusului primar — proces de durată —, care transformă osul spongios în os definitiv (219).

Scanned with OKEN Scanner

Forțele motrice ale regenerării 3

Datele expuse în capitolul precedent ne conduc la concluzia că regenerarea este expresia reactualizării potențialităților de creștere și de diferențiere ale țesuturilor sau organelor, în condițiile acțiunii unei noxe care tulbură echilibrul preexistent dintre organe sau țesuturi.

Ținînd seama de teoria sistemelor biologice (111), (112), (113), (212), (213), regenerarea poate fi considerată ca rezultatul modificării interacțiunilor care se stabilesc în și între subsistemele ce alcătuiesc un sistem viu integral, interacțiuni care conferă *întregului* posibilitatea restabilirii, totale sau parțiale, a subsistemelor sale lezate.

Este știut că organismul viu se comportă ca un sistem integral, ca o acumulare de subsisteme interdependente, care nu numai că își sumează proprietățile, dar sînt și generatoare de proprietăți noi, izvorîte din interrelațiile ce există între ele. Cu cît această integrare este mai puternică, în sensul intensificării interdependenței dintre părți, cu atît integralitatea sistemului viu este mai exprimată. Sistemele morfogenetice alcătuiesc subsisteme ale sistemului integral — organismul — , dar în același timp un sistem morfogenetic este alcătuit dintr-un ansamblu de părți, de țesuturi mai mult sau mai puțin heterogene *(termeni ai subsistemului)*. Cele din urmă sînt, din punctul de vedere al creșterii și diferențierii lor, sub dependența propriilor interrelații, dar și subordonate totodată sistemului integral. Această subordonare implică o anumită interrelație între sistemul integral și subsistemele sale, ceea ce nu exclude însă un anumit grad de independență, de autonomie a celor din urmă.

Cunoscîndu-se coordonatele sistemelor biologice, regenerarea poate fi privită ca o proprietate a sistemelor vii deschise de a-și reface partea ablată. Regenerarea este deci un fenomen dictat, realizat și coordonat de numeroase interacțiuni care funcționează ca forțe motrice. Aceste forțe motrice sînt actualizate prin ruperea echilibrului general preexistent între diferitele țesuturi sau organe, ruptură provocată de acțiunea unei noxe.

În regenerare, procesul de reparație nu se bazează numai pe potențialitățile locale ale subsistemului lezat, ci și pe acțiunea întregului sistem, pe care-l reprezintă organismul și care, în condițiile lezării unuia din subsistemele sale, conferă acestuia o potențialitate neprevăzută în programul său genetic: potențialitatea de regenerare. Oricare ar fi însă raportul spațial și natura interrelațiilor ce dirijează fenomenul regenerării, anvergura acestuia este prestabilită în programul genetic al întregului organism.

Scanned with OKEN Scanner

Ţinînd seama de faptul că subsistemele morfogenetice au un anumit grad de autonomie, dar sînt în acelaşi timp dependente şi de sistemul integrator, care este, într-o anumită măsură, dependent şi de mediu, forţele motrice ale regenerării pot fi grupate în forţe motrice locale intra- şi intersubsistemice, forţe sistemice şi forţe extrasistemice, regenerarea fiind un fenomen complex care angajează întregul organism, precum şi gradul dependenţei sale de mediul înconjurător.

Regenerarea depinde, în primul rînd, de structurile de la locul injuriei, de posibilitatea acestor structuri de a genera interacţiuni morfogenetice şi, în al doilea rînd, de funcţionarea tuturor factorilor integratori ai organismului.

Forţele motrice locale intra- şi intersubsistemice

Aceste forţe sînt reprezentate de interrelaţiile existente în subsistemele sau între subsistemele învecinate, care se actualizează în caz de injurie. Ele sînt decisive în edificarea blastemului de regenerare şi conferă *competenţa* ţesuturilor regenerative, acţionînd şi în condiţiile deconectării organului. Aceste forţe motrice sînt:

Interrelaţia dintre epiderm şi ţesuturile subepiteliale, care, cel puţin la vertebrate, este una din condiţiile fundamentale ale regenerării. Numeroase cercetări au arătat că activitatea sau poziţia epiteliului regenerativ apical în regenerarea membrelor la urodele exercită o influenţă directoare esenţială în migrarea celulelor mezenchimatoase care formează blastemul, stabilind şi stimulînd formarea blastemului de regenerare. Dar influenţele dintre epiderm şi ţesuturile subepiteliale nu au un singur sens; există şi influenţe inverse — ale blastemului asupra epidermului —, influenţe care au un anumit rol în diferenţierea celui din urmă.

Interrelaţia dintre regenerat şi ţesuturile vechi ale bontului de regenerare. Rolul celulelor ţesuturilor bontului amputat în regenerarea membrelor la amfibii nu constă numai în furnizarea de material celular pentru formarea blastemului, ci şi în organizarea şi diferenţierea regeneratului. Se ştie actualmente că la nivelul bontului de amputare există un aşa-zis „teritoriu de regenerare" sau „cîmp morfogenetic", care are influenţe inductive cu rolul de a organiza un regenerat specific. Se stabilesc astfel interrelaţii între aceste cîmpuri morfogenetice şi regenerate, interrelaţii care se soldează cu edificarea unui regenerat specific.

Interrelaţiile dintre ţesutul nervos local şi blastem sînt deosebit de importante. Numeroase experienţe au stabilit rolul trofic şi inductor al sistemului nervos local în procesul regenerării. S-a constatat că prezenţa nervilor la nivelul bontului regenerativ este esenţială pentru acele faze ale regenerării în care are loc formarea blastemului. Aceste interrelaţii se stabilesc, de asemenea, în dublu sens, dat fiind că, prin potenţialităţile sale reactive, blastemul în formare influenţează, la rîndul său, sistemul nervos local.

Interrelaţiile dintre fenomenele de distrugere şi cele de multiplicare celulară de la nivelul leziunii. Este ştiut că orice proces de morfogeneză se caracterizează prin intense procese de distrugere celulară şi concomitent de multiplicare celulară. Pe de altă parte, s-a constatat că existenţa unui

Scanned with OKEN Scanner

anumit raport între intensitatea acestor două procese este de mare importanță în inițierea și în desfășurarea procesului regenerativ.

Interrelațiile dintre factorii umorali locali. Raportul dintre intensitatea proceselor de diviziune celulară și a celor de diferențiere, în cursul regenerării, este consecința unei interrelații între factorii umorali locali, denumiți convențional *promină* și *retină*. Primul, dominant în blastemele tinere, ar determina intense diviziuni celulare și, în consecință, accelerarea creșterii. Al doilea, dominant atunci cînd regeneratul atinge o oarecare dimensiune, ar determina procesele de diferențiere.

Interrelațiile dintre compușii chimici celulari. Țesuturile regenerative prezintă spectaculoase modificări ale dinamicii materialului chimic celular, modificări care le precedă pe cele morfologice. Aceste schimbări de ordin chimic, cantitative sau calitative, generează noi conexiuni, noi raporturi de forță, noi interrelații, deci o calitate nouă, responsabilă parțial de inițierea și de desfășurarea procesului regenerativ.

Se poate sublinia faptul că forțele motrice locale intra- și intersubsistemice funcționează și în condițiile deconectării subsistemului respectiv din cadrul relațiilor sistemice.

Forțele motrice sistemice

Acțiunea exercitată asupra fiecărei celule, țesut sau organ de *ansamblul* celorlalte părți ale organismului are o influență importantă în determinarea procesului regenerativ. Proba o constituie faptul că în culturile de organe izolate, acolo unde corelațiile dintre părțile constitutive ale organismului sînt suspendate, creșterea organelor este infinită. Aceste forțe motrice potențează fenomenul regenerativ și dictează forțelor motrice locale intrasubsistemice ordinea intrării lor în acțiune. Printre forțele motrice sistemice citām:

Acțiunea întregului organism asupra desfășurării procesului regenerativ. În această direcție se semnalează rolul metabolismului bazal, de a cărui intensitate depinde în mare măsură intensitatea proceselor de regenerare (1217). Se mai semnalează, în același sens, rolul vîrstei animalelor, mărimea lor, specia căreia aparțin, funcția organului amputat, cantitatea de țesut extirpat și starea de sănătate a animalelor, capacitatea de regenerare depinzînd de acești factori, care, la rîndul lor, sînt dependenți de organismul integral (573), (1035), (1036). La mormolocii de amfibii, capacitatea de regenerare scade cu vîrsta și este invers proporțională cu cantitatea de țesut extirpat.

Interrelațiile dintre sistemul nervos central și blastemul regenerativ. Numeroase experiențe au demonstrat rolul trofic și inductor al sistemului nervos central în procesul inițierii regenerării diferitelor țesuturi sau organe. Existența unui raport activ „sistem nervos — blastem" comportă însă participarea eficientă nu numai a sistemului nervos, dar și pe cea a blastemului. Regenerarea optimă se realizează astfel numai în condițiile unui raport echilibrat „sistem nervos central — reactivitate blastemală".

Interrelațiile dintre umorile organismului și blastemul de regenerare. Viteza procesului de regenerare este foarte sensibilă la fluctuațiile echilibrului hormonal. Hormonii specifici, care joacă un rol important în anumite fenomene de creștere, par a fi în măsură să influențeze creșterea regenerativă

Scanned with OKEN Scanner

(tiroida, hipofiza, suprarenala). Se pare că există şi o neurosecreţie care intervine în procesul regenerativ şi că axul hipofizo-suprarenal ţine sub dependenţa sa intensitatea fenomenului de restituţie. Dar relaţia pare a fi şi inversă, gradul de restituţie al părţilor pierdute comandînd, la rîndul său, cantitatea de secreţie hormonală. Există deci o reală interferenţă între cantitatea secreţiei hormonale şi starea de creştere şi de diferenţiere a blastemului.

În aceeaşi ordine de idei trebuie menţionate cercetările care au pus în evidenţă faptul că în serul animalelor indemne există un factor seric frenator al regenerării hepatice. Astfel, la animalul care a fost hepatectomizat parţial, acest factor inhibă mitozele. La animalul cu ficatul parţial rezecat, factorul inhibitor este anulat sau blocat — fapt ce permite deblocarea mitozelor — printr-un alt factor seric provenind din ficatul rezecat în urma procesului de necrobioză, factor de natură lipo-proteică sau de-a dreptul lipidică (21), (151), (346), (369), (380), (381), (500), (520), (542), (602), (708), (855), (979), (1003), (1196), (1409).

Forţele motrice extrasistemice

Numeroase cercetări au demonstrat că factorii de mediu (lumina, temperatura, radiaţiile, electricitatea, presiunea osmotică, tensiunea superficială, oxigenul, substanţele chimice) potenţează sau influenţează fenomenele regenerative, fie cantitativ, cum este cazul volumului regeneratului, fie calitativ, ca în cazul diferenţierii regeneratului, şi dictează forţelor motrice locale ordinea intrării lor în acţiune. O serie de factori stressanţi care vizează integralitatea organismului pot astfel modifica desfăşurarea şi finalizarea procesului regenerativ. Programul genetic care a „memorat", în decursul filogeniei, mesajele mediului extern dictează elaborarea unor răspunsuri adecvate. Astfel, s-au impus relaţiile organism — mediu ca sursă a forţelor motrice extrasistemice ale procesului regenerativ.

*

Forţele motrice sînt actualizate, în cazul regenerării, prin faptul că echilibrul dintre ţesuturi se rupe în urma acţiunii unei anumite noxe. Ruptura relaţiilor normale dintre ţesuturi tulbură echilibrul dintre părţi şi dezlănţuie procese de restabilire a acestui echilibru, procese a căror consecinţă este restituţia ţesuturilor lezate.

Stingerea uneia dintre forţele motrice ale regenerării determină abolirea procesului regenerativ:

1. În cazul amputării unui membru la vertebratele superioare (mamifere), se constată interpunerea între epiderm şi mezenchim a unui ţesut cicatriceal, care anulează interrelaţia necesară dintre epiderm şi ţesuturile subepiteliale, fapt ce constituie o circumstanţă defavorabilă procesului de restituţie a membrului amputat. Totuşi, dacă din punctul de vedere al fenomenelor de restituţie aceasta reprezintă o circumstanţă defavorabilă, din punctul de vedere al utilităţii pentru organism este o necesitate. Într-adevăr, formarea unei cicatrice preîntîmpină infecţiile. Este deci mai avantajoasă pentru individ şi pentru specie închiderea rapidă şi efectivă a unei plăgi decît refacerea organului pierdut.

Scanned with OKEN Scanner

2. În cursul evoluției vertebratelor superioare se constată o extincție a relației dintre sistemul nervos și restul țesuturilor, ceea ce aduce după sine o reducere a factorului trofic și o putere regenerativă mai scăzută. Factorul trofic de natură nervoasă se reduce în așa măsură, încît nu mai este capabil să actualizeze capacitatea de creștere și de diferențiere a țesuturilor periferice. Pe de altă parte, acestea din urmă devin refractare la incitațiile factorului trofic nervos. Se anulează astfel o importantă forță motrice a regenerării; împiedicarea restituției membrelor amputate la vertebratele superioare se bazează deci pe această circumstanță.

3. Tot în decursul evoluției vertebratelor superioare, fibrele nervoase diminuează la nivelul țesuturilor periferice, astfel încît transmiterea impulsului-comandă de la „întreg" la „parte" nu mai are loc și rolul inductor al sistemului nervos este pierdut. Aceasta reprezintă o altă circumstanță care împiedică regenerarea membrelor amputate.

4. În cursul evoluției vertebratelor superioare au loc profunde modificări ale sistemului hormonal, implicat mai ales în apărarea activă selectivă a organismului, fapt ce aduce după sine diminuarea rolului său ca forță motrice a regenerării.

5. Achiziția evolutivă a unei anumite autonomii față de mediu și crearea unei secluziuni foarte eficace conduc la dispariția relației organism — mediu ca forță motrice a regenerării.

La vertebratele superioare, cînd puterea regenerativă a organelor externe scade prin stingerea unora dintre forțele motrice ale regenerării, crește, în schimb, puterea de regenerare a organelor interne. Condițiile vieții terestre impun, în primul rînd, oligomerizarea organelor și, în consecință, plurifuncționalitatea și hiperfuncționalitatea lor. În acest context, relația organism — mediu conduce la o intensificare a metabolismului, la o permanentă uzură a materialului celular și, ca urmare, la necesitatea refacerii materialului uzat. Relația organism — mediu se impune deci *numai* ca o forță motrice a regenerării fiziologice, regenerarea compensatorie și hipertrofia compensatorie fiind expresii forțate ale regenerării fiziologice. În acest caz este semnalată însă apariția de forțe motrice speciale, și anume:

Forțele motrice locale intrasubsistemice sînt determinante în ablațiile subtotale ale organelor interne și în regenerarea hipertrofică, dovadă că în regenerarea ficatului *in vitro*, în condiții de deconectare (952), procesele de regenerare sînt similare celor care au loc *in vivo*. Aceste forțe sînt:

— *redundanța*, adică existența unei rezerve funcționale în toate elementele unui organ intern. Sistemele tisulare repartizate în toate compartimentele organizării fac ca potențialitățile funcționale din organ să se repete. Astfel, experiențele noastre (953), (955), (956), (958) au demonstrat că în ficatul restant există o rezervă funcțională extraordinar de mare, probată de exacerbarea tuturor parametrilor funcționali în urma hepatectomiei parțiale;

— *plasticitatea* tuturor constituenților celulari.

Forțele motrice de ordin sistemic se suprapun forțelor motrice locale și potențează fenomenele de restituție. Printre aceste forțe trebuie amintite cele ale sistemului neuro-umoral. Astfel, așa cum am arătat, experiențele de parabioză *in vitro* (952), precum și alte experiențe, dovedesc existența unor factori serici cu efect asupra regenerării hepatice. În urma acestor cer-

Scanned with OKEN Scanner

cetări se constată o scădere gradată a concentrației proteinelor plasmatice, ceea ce determină modificări în conținutul proteinelor din zona perilobulară a ficatului restant. Este posibil ca, prin retroaferentație, aparatul genetic să fie mobilizat în vederea unei sinteze sporite de acizi nucleici, care generează consecutiv un val mitotic a cărui orientare este conformă gradientului periferie — centru.

S-a stabilit, tot pe această cale, existența modificărilor structurale ale hipofizei în decursul regenerării hepatice, hormonul somatotrop determinînd creșterea numărului de mitoze, intensificarea sintezei acizilor nucleici și a fosfolipidelor necesare hiperplaziei și hipertrofiei celulare ce au loc în cursul regenerării hepatice. Intervenția sistemului hipotalamo-hipofizar în procesele regenerării hepatice ar asigura nu numai refacerea porțiunii pierdute, dar și echilibrarea alterărilor metabolismului, survenite în urma exerezei unei porțiuni importante din parenchimul hepatic.

Pe de altă parte, intervenția sistemului nervos în regenerarea organelor interne este susținută de o serie de observații, asupra cărora vom reveni.

De asemenea s-a stabilit rolul factorilor de nutriție (alimentație carențată, inaniție), precum și al acțiunii vitaminelor în accelerarea fenomenelor regenerative (214), (215), (216), (217), (218), (723), (732), (736), (747), (940), (941), (948), (950), (951).

Forțele motrice extrasistemice. Condițiile vieții terestre, după cum am arătat, impun oligomerizarea organelor și, în consecință, plurifuncționalitatea și hiperfuncționalitatea lor. De aceea se consideră, în acest context, că relația organism — mediu impune o intensificare a metabolismului, o uzură permanentă a materialului celular și, consecutiv, reconstrucția sa. Relația organism — mediu apare deci ca o forță motrice a regenerării fiziologice și la organismele superioare.

Din toate aceste date rezultă că regenerarea apare ca un proces inițiat de forțe motrice, reglat de anumite forțe de reglare și stopat, la momentul oportun, de extincția interrelațiilor morfogenetice. Anvergura acestui proces este prestabilită în programul genetic al organismului.

Într-adevăr, în afara forțelor motrice care reprezintă „motorul" regenerării, există și alte forțe motrice care vizează reglarea și controlul procesului regenerativ. Însăși reversibilitatea materiei vii implică existența unor mecanisme de reglare și control, datorită cărora elementul reglat, „parte" în regenerare, reface copia, mai mult sau mai puțin fidelă, a originalului, de unde urmează că precizia reglării este diferită. Experiența noastră în domeniul regenerării extremităților la urodele (938), (942), (944) ne permite să concludem că regeneratul nu este, nici structural, nici funcțional, de calitatea originalului. Tot experiența noastră privind regenerarea ficatului la mamifere ne conduce la concluzia că forțele motrice ale reglării acestei regenerări privesc, în primul rînd, reglarea structurii organului lezat. Mecanismul de acțiune al acestor forțe este cel de *feed-back* și constă în acțiunea produșilor finali ai unei anumite căi metabolice asupra propriei ei căi de sinteză, precum și în intervenția aparatului genetic în reechilibrarea metabolismului. Astfel, hepatectomia subtotală are drept efect scăderea momentană a produșilor finali ai căilor metabolice în circuitul cărora ficatul este direct interesat. Prin retroaferentație sînt activate acele enzime prin care se ajunge la augmentarea produșilor necesari noilor construcții. Din aceste substanțe,

Scanned with OKEN Scanner

cele glucidice sau lipidice cad sub controlul forţelor motrice dinafara aparatului genetic, pe cînd cele proteice sau acizii nucleici sînt controlaţi genetic. Aceste forţe motrice ale controlului nivelului produşilor metabolici ai ficatului regenerativ reprezintă forţe de control local, care îşi exercită acţiunea şi în condiţiile explantării *(in vitro)*.

După unii autori (698), controlul regenerării ar sta sub dependenţa unui factor încă nestabilit (albumină?, fosfolipide?, corticosuprarenală?).

În momentul în care scopul regenerării a fost atins, adică organul şi-a refăcut morfologia şi funcţionalitatea, forţele motrice ale regenerării îşi suspendă acţiunea şi toate procesele morfogenetice încetează. În condiţiile în care acest proces nu are loc, scopul regenerării este depăşit şi apar heteromorfozele, semne ale dezordinii din sistemul cibernetic viu.

Scanned with OKEN Scanner

4 Mecanismele generale ale procesului regenerativ

Bazele biochimice ale regenerării

În primele decade ale secolului nostru, biologii au arătat un interes deosebit pentru studiul morfologic al procesului regenerativ. Cu această ocazie s-a descris aspectul macro- și microscopic al morfogenezei regenerative a tuturor organelor externe la toate clasele de vertebrate. Ulterior însă, a început studiul fiziologic experimental al acestui proces, studiu care a căutat să elucideze mecanismele și semnificația funcțională a modificărilor morfologice ce au loc în cursul regenerării. În ultima vreme, studiile privind regenerarea au fost îndeosebi îndreptate asupra bazelor biochimice cantitative și calitative ale regenerării, fiind aprofundate cauzele și mecanismele acestui proces. Cercetările moderne de bio- și histochimie, care pornesc de la constatarea că *modificările biochimice precedă modificările morfologice*, au permis să se aprofundeze cunoașterea intimă, metabolică, a mecanismelor regenerării. S-a constatat astfel că procesele morfologice nu sînt decît expresia vizibilă a proceselor metabolice care au loc în organele pe cale de regenerare. Deși cunoștințele noastre actuale în acest domeniu sînt departe de a fi complete, ele ne-au furnizat totuși unele indicații prețioase, care ne conduc la cîteva concluzii preliminare cu privire la mecanismele procesului regenerativ.

Reglarea biochimică a regenerării a fost stabilită pe cale directă în urma folosirii metodelor biochimice, histochimice și histoenzimologice în studiul țesuturilor și organelor pe cale de regenerare. Această reglare a fost dovedită și indirect prin faptul că regenerarea poate fi provocată în urma implantării experimentale de blastem sau în urma implantării homogenatelor de blastem (1166).

S-a constatat că interrelațiile biochimice care se stabilesc între diferitele țesuturi la nivelul zonei de regenerare constituie puternice forțe motrice ale regenerării.

S-a mai stabilit că, în general, modificările biochimice care apar în cursul procesului de regenerare depind de specia studiată, de vîrsta animalului, de țesutul sau organul examinat, de etapa procesului regenerativ, de faptul dacă plaga a fost sau nu infectată și de un anumit ritm circadian în repartizarea substanțelor organice din organismul respectiv. Aceasta face ca modificările constatate să nu fie întotdeauna concordante și de aceea nu se pot trage decît concluzii general statistice.

Scanned with OKEN Scanner

Din aceste motive este cazul să ne oprim asupra cercetărilor biochimice efectuate pînă în prezent în acest domeniu, pentru a stabili în ce măsură rezultatele obținute permit o cunoaștere mai aprofundată a mecanismelor procesului regenerativ.

Glucidele și metabolismul lor în cursul regenerării

Regenerarea organelor externe

Regenerarea epiteliului organului amputat

În general, la amfibii, păsări și mamifere, cantitatea de glicogen, absentă în faza de alunecare a epiteliilor laterale către centrul plăgii, începe să crească după epitelializarea plăgii, dispărînd însă total sau parțial după ce proliferarea și keratinizarea epidermului au avut loc.

Astfel, în regenerarea cozii la axolotl s-a stabilit (525) că glicogenul apare în epiteliul regenerativ la 24 de ore după amputare, atunci cînd închiderea plăgii este completă, spre deosebire de coada normală, unde glicogenul este absent în epiteliu. Glicogenul rămîne constant pînă la 10 zile după amputare, cînd începe să scadă.

În regenerarea membrelor la triton, unde în epiteliul membrelor neamputate reacția PAS este slab pozitivă în celulele epidermice, fiind mai evidentă în celulele superficiale ale epidermului, la 24 de ore de la amputare, atunci cînd închiderea plăgii este completă (epiteliul posedînd 6 straturi de celule), se constată existența de picături de glicogen pe un fond PAS-pozitiv în celulele epiteliului apical. Macrofagele și leucocitele situate între celulele epiteliale prezintă granule de glicogen. Între 24 de ore și 10 zile de la amputare, atunci cînd au loc creșterea în grosime a epiteliului și o histoliză subapicală, reacția PAS devine foarte pronunțată în epiteliu, mai ales în celulele superficiale ale scufiței apicale. La 10 zile de la amputare, celulele bazale conțin mai puțin glicogen decît celulele apicale, de unde prezența unui gradient PAS responsabil de extinderea diametrului epiteliului apical. Între 13 și 25 de zile de la amputare, atunci cînd are loc formarea blastemului de regenerare, se constată o diminuare a glicogenului citoplasmatic din celulele scufiței apicale, diminuare paralelă cu scăderea numărului de straturi ale epiteliului apical (1065), (1429) (fig. 44).

După unii autori, glicogenul celulelor apicale și-ar avea geneza în celulele subepiteliale degradate (mușchi, nervi), fapt care ar fi probat prin dispariția acestui material din celulele respective. Ar fi deci vorba de o fagocitare a resturilor distruse și purtătoare de glicogen.

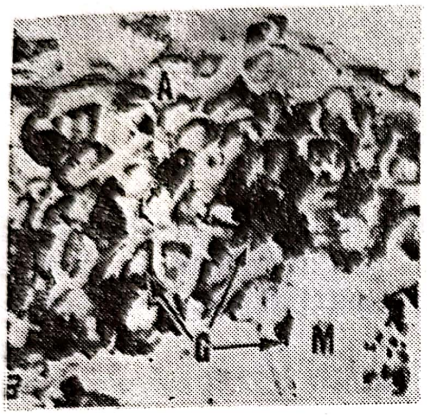
În regenerarea cozii la triton (942), substanțele PAS-pozitive nu prezintă modificări la nivelul epiteliului regenerativ în perioada 1—21 de zile după amputare. Singura modificare ar consta în apariția unui lizereu PAS-pozitiv mai accentuat la nivelul polului profund al celulelor epiteliale bazale.

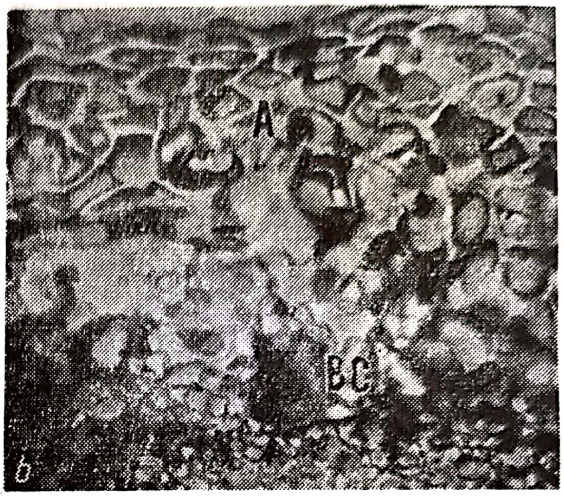
Augmentarea cantității de glicogen din epiteliul regenerativ este vizibilă și în cursul regenerării pielii la păsări (123).

Scanned with OKEN Scanner

În leziunile provocate prin arsură la porci, în primele ore după lezare glicogenul, care este absent în pielea normală, apare în epiteliul proliferativ. În fazele mai tardive ale regenerării, glicogenul dispare însă din epiteliu (79), (80).

În plăgile șoarecilor albi se constată, imediat după formarea epiteliului regenerativ, că acesta conține o cantitate mică de glicogen, absent în





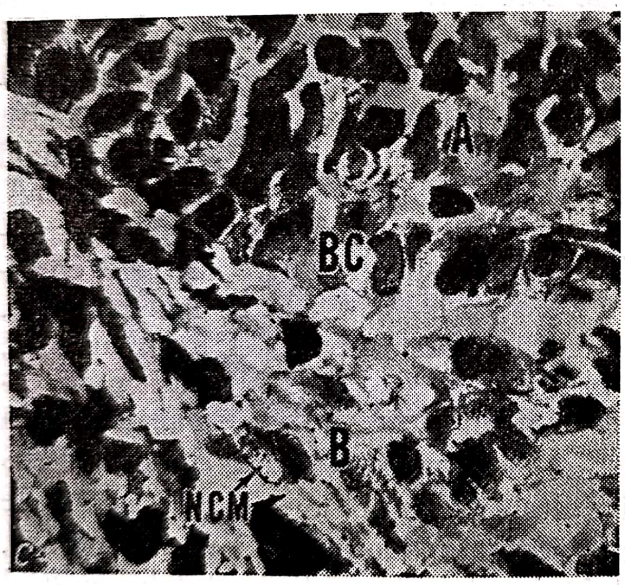


Fig. 44. — Glicogenul în epiteliul apical al regeneratului de membru de triton (după Schmidt):

a, la 24 de ore de la amputare: *G*, globule de glicogen; *M*, mușchi; *A*, epiteliu apical; *L*, leucocit.

b, la 4 zile de la amputare: *A*, epiteliu apical; *BC*, celule epiteliale bazale; *V*, vacuole.

c, la 22 de zile de la amputare: *B*, blastem; *BC*, celule epiteliale bazale; *A*, epiteliu apical.

pielea normală. La 3 zile după lezare, cantitatea de glicogen din epiteliul regenerativ crește (584).

În regenerarea plăgilor la șobolani, glicogenul se găsește, în cantități mari, în stratul leucocitar necrotic și în epiteliul regenerativ. Conținutul în glicogen este foarte mare, cu excepția stratului bazal și a epiteliului keratinizat de la marginea plăgii (123), (1414), (1415), (1416).

În regenerarea plăgilor la om, glicogenul apare în epiderm în stadiile timpurii ale refacerii. Se constată creșterea cantității de glicogen în straturile mijlocii, puțin diferențiate, ale epiteliului regenerativ. În straturile superficiale și profunde (stratul bazal), glicogenul este absent. În stadiile finale ale regenerării, cantitatea de glicogen scade. Aceste fluctuații cantitative ale glicogenului sînt în antiteză cu absența glicogenului din epiteliul pielii normale a omului (78), (89), (854), (1191), (1334), (1420).

Scanned with OKEN Scanner

S-a mai constatat, tot la mamifere, augmentarea cantității de glicogen la nivelul marginilor plăgii la cîteva zile după lezare (1363). Acest ultim fenomen a fost observat și în epiteliul din jurul plăgilor atone ale omului, precum și în plăgile experimentale atone ale cobaiului. Analiza exsudatului de dedesubtul epiteliului regenerativ a pus în evidență existența unei mari cantități de glicogen și de proteine, fapt care se pare că ar favoriza proliferarea țesutului de granulație (371), (525). De asemenea, în plăgile produse prin iradierea epidermului la șoarecii albi, la 48 de ore de la iradiere glicogenul apare și crește în epiteliu, iar la 144 de ore scade (463). În general, se poate spune că la mamifere cantitatea de glicogen citoplasmatic este abundentă în epiteliul regenerativ (803).

Se pare că acumularea de glicogen în regenerarea epiteliului este în strînsă legătură cu procesul keratinizării pielii. Glucidele, care sînt absente în epiteliul normal nealterat, apar și încep să se acumuleze în epiteliu în cursul preparării fazei proliferării și al keratinizării acestuia, pentru a dispărea atunci cînd aceste procese sînt efectuate.

Există însă unele controverse cu privire la modul în care are loc acumularea de glicogen în epiteliul regenerativ. Unii autori (1414), (1415), (1416), care au constatat că acumularea de glicogen s-ar face îndeosebi în celulele a căror activitate metabolică este redusă sau chiar inexistentă, cum ar fi celulele epiteliale, consideră că acumularea glicogenului are loc datorită neutilizării sale. După alți autori (79), (80), este vorba de un consum excesiv legat de o resinteză excesivă a glicogenului. Probabil că prima ipoteză este cea justă, acumularea de glicogen avînd loc în vederea creării de rezerve energetice și de material plastic, necesare proliferării și keratinizării epiteliului. Ipoteza își găsește dealtfel confirmarea și în faptul că, odată aceste procese efectuate prin folosirea glicogenului ca sursă energetică și de material plastic, substanța dispare complet din epiteliu. Într-adevăr, cantitatea mare de glicogen care se menține după keratinizare începe să scadă paralel cu diferențierea organelor anexe ale pielii, scăderea aducînd glicogenul la nivelul său normal. Trebuie însă subliniat că această scădere privește doar celulele epiteliale, și nu și foliculii piloși și glandele secretorii, unde cantitatea de glicogen rămîne ridicată, cum este, dealtfel, și în pielea normală.

Formarea blastemului de regenerare sau a țesutului de granulație

Glicogenul apare în blastem sau în țesutul de granulație doar după ce a apărut în epiteliu, fiind legat de geneza acestor țesuturi subepiteliale. Din momentul în care are loc dediferențierea celulară și începe formarea blastemului sau a țesutului de granulație, se constată și o augmentare cantitativă a glucidelor, care sînt repartizate în toate celulele subepidermice; această augmentare este paralelă cu formarea și cu proliferarea țesuturilor subepiteliale. Odată cu diferențierea țesuturilor subepiteliale se constată o diminuare a cantității de glicogen.

Astfel, în regenerarea cozii la axolotl, unde glicogenul este absent în țesutul conjunctiv al cozii normale, se constată apariția sa în citoplasma celulelor blastemale la 4 zile după amputare. La 10 zile, glicogenul începe să dispară din blastemul pe cale de diferențiere. Deci glicogenul este prezent doar în cursul formării blastemului și dispare în diferențiere (525).

Scanned with OKEN Scanner

În regenerarea membrelor la triton (1064), (1065), (1429), în perioada imediată amputării (24 ore) glicogenul este prezent, în cantități variabile, în leucocitele, macrofagele, fibroblastele și limfocitele subepiteliale. De asemenea, cantitatea de glicogen este foarte mare în glandele subepiteliale. Capetele musculare amputate sînt lipsite de glicogen. În perioada preblastemică (24 ore — 10 zile) se constată rare granulații citoplasmatice de glicogen în celulele subepiteliale. Partea distală a mușchilor, aflați în dezintegrare, este lipsită de glicogen sau cantitatea de glicogen este mult diminuată. Partea proximală a mușchilor, intactă, prezintă granule de glicogen. În perioada blastemică (10—25 zile), celulele subepiteliale, aglomerate apical, prezintă o reacție PAS-pozitivă în membranele celulare și nucleare și o reacție foarte slab pozitivă în citoplasmă în blastemul timpuriu, în acest moment întîlnindu-se rare granulații citoplasmatice de glicogen. Reacția citoplasmatică devine însă mai intensă ulterior. Fibrele fine subepiteliale prezintă o reacție PAS-pozitivă. Între celulele blastemale se găsesc numeroase capilare cu pereții PAS-pozitivi. Fibrele capetelor dezintegrate ale mușchilor încep să aibă o slabă reacție difuză PAS-pozitivă.

În perioada care precedă diferențierea (25—28 zile) începe condrogeneza. În acest stadiu se constată prezența de fibre fine PAS-pozitive, situate între celulele precartilaginoase ale precartilajului axial. Tot în această perioadă are loc o acumulare de glicogen în celulele musculare pe cale de diferențiere.

În perioada diferențierii (28—31 zile), cantitatea de glicogen devine foarte mare în condrocitele hipertrofiate și în proosteoblastele cartilajului pe cale de osificare. Matricea și pericondrul sînt de asemenea PAS-pozitive. Glicogenul nu apare deci în condrocite decît atunci cînd ele se învelesc cu o matrice și înaintea unei activități enzimatice glicogenice. Tot în această perioadă se constată existența unei cantități masive de glicogen în celulele musculare rediferențiate și cantități mari de glicogen în teaca Schwann a nervilor în regenerare.

S-a stabilit că, în cursul perioadei blastemale, acumularea glicogenului este mai evidentă în celulele capătului apical al regeneratului.

Unii autori n-au detectat însă glicogen în blastemul membrelor de urodele pe cale de regenerare, notînd apariția și acumularea lui doar în cursul diferențierii (803), dar aceste cercetări par a fi susceptibile de erori tehnice.

În regenerarea plăgilor la șoarecii albi, glicogenul este localizat în citoplasma leucocitelor, neutrofilelor, fibroblastelor și histiocitelor subepiteliale la 3 zile după lezare (584). În lezarea pielii prin iradiere, se constată la 24 de ore prezența unui conținut bogat în glicogen al histiocitelor subepiteliale și al substanței fundamentale, fibrocitele dediferențiate fiind lipsite de glicogen. În cursul vindecării plăgii, glicogenul crește cantitativ în fibroblaste și în celulele migratoare (463).

S-a mai constatat că după lezarea pielii la șobolan, în primele 24 de ore, glicogenul se găsește în cantitate mică în straturile superficiale și profunde și este absent în stratul vascular al țesutului de granulație pe cale de formare. Substanța este prezentă mai ales în citoplasma leucocitelor, unde semnalează nefolosirea ei, aceste celule pe cale de dezintegrare prezentînd un nivel de glicogen tot atît de înalt ca și cel al leucocitelor intravasculare. Glicogenul este absent în fibrocite. Absența sa în stratul vascular se explică prin faptul că acest strat are un rol foarte important în formarea țesutului cicatriceal și deci necesită un consum foarte înalt de energie, revelat prin

Scanned with OKEN Scanner

folosirea glicogenului. Între 24 și 48 de ore de la lezare, se regăsește aceeași situație, cantitatea de glicogen fiind foarte mică în ambele straturi ale țesutului de granulație. În zilele 3—9 se constată o augmentare progresivă în celulele și în substanța fundamentală, în special a zonei superficiale productive. La 7 zile, acumularea glicogenului în regiunile periferice ale plăgii este accentuată, întrucît, procesul de cicatrizare fiind terminat la acest nivel, activitatea metabolică a țesuturilor este diminuată și glicogenul nu mai este folosit. Începînd cu ziua a 14-a, cantitatea de glicogen diminuează mai întîi în zona profundă și în cea vasculară, substanța rămînînd cantonată numai la nivelul straturilor mai superficiale, unde diminuarea se va face progresiv dinspre profunzime spre suprafață și de la periferie spre centru (1414), (1415), (1416).

În concluzie, se poate spune că procesele privind glicogenogeneza și glicogenopexia sînt mai evidente în țesutul de granulație decît în blastemul de regenerare.

Cum glicogenul dispare odată cu colagenizarea și keratinizarea, precum și cu diferențierea țesutului de granulație, excepție făcînd foliculii piloși și glandele anexe, se poate conchide că substanțele glucidice joacă un rol deosebit în procesele de fibrilogeneză. Astfel, pe cînd la urodele glucidele au un rol important în condrogeneză, la mamifere ele joacă un rol deosebit în fibrilogeneză.

Legătura cu fibrilogeneza este marcată și prin situația *mucopolizaharidelor* și a *glicoproteidelor* din țesuturile subepiteliale, situație strict corelată cu procesul de colagenizare, dovadă că augmentarea și diminuarea acestor substanțe sînt paralele cu începutul și cu încheierea procesului de colagenizare. Faptul este pus în evidență în blastemul și în cartilajul membrelor regenerative de amfibii, ca și în pielea, în oasele, în țesutul fibros și în cartilajul organelor în regenerare la mamifere (89), (463), (584), (585), (586), (789), (1275), (1414), (1415), (1416).

Astfel, sinteza activă de hialuronat a fost demonstrată în blastemul tînăr dediferențiat al membrului regenerativ de triton. Cercetări făcute cu ajutorul precursorilor marcați au stabilit că încorporarea acestor precursori în hialuronat este maximă la 10 zile după amputare, fiind mai intensă în blastemul dediferențiat din porțiunea cea mai distală a bontului și descrescînd în direcție proximală. Producerea hialuronatului este deci corelată cu formarea inițială a blastemului și ar avea un rol posibil în reglarea comportamentului celulelor mezenchimale. După 10 zile urmează scăderea sintezei de hialuronat, scădere care se pare că este o condiție a diferențierii precartilajului. Sinteza de hialuronat este atunci înlocuită cu sinteza de condroitinsulfat; aceasta din urmă devine maximă la 25—35 de zile de la amputare, fiind localizată în cartilajul metacromatic pe cale de diferențiere, deci constituind baza biochimică a formării cartilajului (1275).

La mamifere, la 48 de ore de la lezarea pielii, sinteza colagenului este prezentă în vindecarea plăgilor (789). S-a constatat că acidul hialuronic se acumulează de la începutul regenerării pielii, pentru a diminua apoi progresiv în cursul formării colagenului (585). Așadar, în stadiile tinere ale proceselor reparative există o sinteză activă de hialuronat, care implică formarea, migrarea și proliferarea activă a celulelor participante la restituție, în vindecarea plăgii cutanate (72), în regenerarea tendonului (270) etc. La 48 de ore

Scanned with OKEN Scanner

de la lezarea pielii, depozitarea de către fibroblaste a unui material extracelular, format din colagen și mucopolizaharide, este evidentă (550).

Astfel, în diferitele etape de regenerare a pielii la iepuri, celulele de la nivelul regeneratului conțin o mare cantitate de mucopolizaharide acide, în special de acid hialuronic și acid condroitinsulfuric, care augmentează în perioada productivă a țesutului de granulație. Ulterior, odată cu colagenizarea, concentrația acestor componente scade, fiind însoțită de augmentarea numărului de fibrile colagene și de mucopolizaharide neutre; ultimele augmentează apreciabil în substanța fundamentală paralel cu fibrilogeneza (586).

La șoarecii albi, în regenerarea pielii după iradiere, se constată că mastocitele au un conținut bogat în mucopolizaharide (463).

În regenerarea pielii la șobolani, conținutul în glicoproteine este mare în celulele leucocitare ale țesutului de granulație. În stratul vascular, vasele mici au un conținut redus, datorită rolului capilarelor în desfășurarea schimbului de substanțe, pe cînd în vasele mari, cu pereții îngroșați, se găsește un conținut bogat în glicoproteine, dat fiind că, la acest nivel, nu există un schimb de substanțe între țesutul de granulație și sînge. Substanța fundamentală a țesutului de granulație este bogată în glicoproteine în primele zile ale regenerării. Cantitatea glicoproteinelor crește însă paralel cu cea a glicogenului. Scăderea ulterioară a cantității de glicoproteine din substanța fundamentală are loc de asemenea paralel cu cea a glicogenului, odată cu terminarea colagenizării (1414), (1415), (1416).

În regenerarea pielii la cîine, cantitatea de acid hialuronic din piele, la început mică, crește apoi pînă la un maxim situat în a 28-a zi, după care rămîne relativ constantă. Hexozamina și hexoza sînt relativ abundente la 7 zile, iar concentrația lor crește ulterior destul de ușor. În stadiul incipient al regenerării se constată prezența anumitor mucopolizaharide lipsite de acid uronic.

În regenerarea pielii la om, fibrilogeneza este însoțită de o creștere apreciabilă a mucopolizaharidelor acide în substanța fundamentală. Straturile superficiale ale țesutului de granulație sînt sărace în mucopolizaharide acide, ca și fibroblastele responsabile de fibrilogeneză (88).

Cercetările efectuate pe cale chimică asupra regeneratului de piele în totalitatea sa au dus la rezultate concordante cu cele obținute prin cercetările histochimice asupra diferitelor sale componente. Astfel, la șoarecii albi se constată că, la 3 zile după lezarea pielii, concentrația glicogenului scade progresiv în țesuturile lezate, scăderea avînd loc pe seama glicogenului foliculilor piloși, care constituie rezerva principală de glicogen a pielii. După 3 zile de la lezare, cantitatea de glicogen crește peste valoarea normală, datorită acumulării sale în epiteliu, mai ales în epiteliul foliculilor piloși. La 2 săptămîni, cantitatea de glicogen revine la normal (584). În hidrolizatul țesuturilor din stadiul incipient al regenerării pielii la cîine s-au pus în evidență cantități apreciabile de galactoză, manoză și glucoză, ultima mai ales sub forma de glicogen.

Din toate aceste date reiese că, în decursul regenerării organelor externe, are loc o desfășurare alternantă (fazică) a metabolismului glucidic (1429), în sensul că glicogenul, mucopolizaharidele și glicoproteinele, care prezintă o acumulare progresivă în cursul formării epiteliului blastemului de regenerare sau țesutului de granulație, scad progresiv odată cu diferențierea rege-

Scanned with OKEN Scanner

neratului. Creşterea cantităţii de glicogen are loc mai întîi în epiteliu şi doar ulterior în blastem. Diminuarea cantităţii de glicogen urmează acelaşi sens: întîi în epiteliu şi apoi în blastem. După unii autori (1414), (1415), (1416), acumularea de glicogen este datorată nefolosirii sale, în timp ce alţi autori (79), (80) consideră că această acumulare este consecinţa unei resinteze excesive a glicogenului în urma consumării lui excesive. Probabil că prima ipoteză este cea justă, acumularea de glicogen efectuîndu-se în vederea creării de rezerve energetice şi de material plastic în scopul realizării procesului de proliferare, diferenţiere şi keratinizare. Confirmarea acestei ipoteze se găseşte în faptul că, în cursul perioadei de acumulare a glicogenului, are loc şi o scădere a activităţii fosfatazei alcaline, ceea ce ar arăta că fosfataza nu intervine în procesele de degradare a glicogenului, precum şi o respiraţie anaerobă, care pledează în acelaşi sens. Dimpotrivă, atunci cînd are loc scăderea cantităţii de glicogen, se constată şi o creştere a activităţii fosfatazei alcaline şi a respiraţiei aerobe. Este cert că această scădere a glicogenului, utilizat ca sursă energetică şi ca sursă de material plastic, implică folosirea lui în vederea sintezei structurilor diferenţiate, pentru că ea are loc în perioada de diferenţiere a ţesuturilor regenerative.

Augmentarea mucopolizaharidelor şi a glicoproteinelor în faza de diferenţiere poate fi legată, cu certitudine, de procesul de colagenizare, dispariţia lor coincizînd cu încheierea acestui proces.

Regenerarea organelor interne

Regenerarea ficatului

Prin numeroase cercetări biochimice şi histochimice s-a constatat că în ficatul regenerativ de şobolan (după hepatectomie parţială) are loc, în *faza hiperplazică*, o creştere a nivelului respiraţiei endogene şi a glicolizei, paralel cu scăderea cantităţii de glicogen hepatic (417), (698), (792), (950), (951), (1112) (fig. 45). Există deci o catabolizare puternică a glucidelor cu solici-

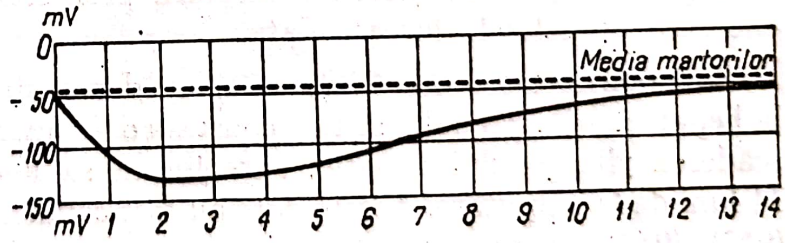


Fig. 45. — Modificarea potenţialului oxidoreductor în ficatul de şobolan pe cale de regenerare (Mustea şi colab.).

tarea intensă a rezervelor de glicogen depozitate în parenchimul hepatic. SIEBERT (1112) a arătat că glicoliza creşte în mod impresionant în nucleii hepatocitelor, dar scade remarcabil în citoplasmă. Unele cercetări (324), (362) au stabilit că celulele în mitoză îşi pierd gradat glicogenul, ceea ce face ca ele să conţină mai puţin glicogen decît celulele care nu sînt în mitoză. Totuşi, glicogenul ar reapărea în celulele în mitoză în mod gradat, odată cu telofaza.

Scanned with OKEN Scanner

Cercetările histochimice privind situația glicogenului din perioada hiperplazică a ficatului în regenerare (227), (792), (947), (950) au pus în evidență că, în extirparea unei mase relativ reduse din ficat (20%), nu se constată modificări semnificative. În extirpările masive (60%) însă, în primele 48 de ore de la operație, glicogenul scade treptat, pînă la dispariția completă, în unele zone ale ficatului restant. În zilele 5—7 se observă o scădere foarte pronunțată a glicogenului, mergînd pînă la dispariția aproape totală a acestei substanțe din tot ficatul restant. Această situație este determinată, pe de o parte, de necesitățile proceselor de sinteză ale constituenților celulari, sub aspect energetic și sub aspectul furnizării unor intermediari (acid piruvic, acid cetoglutaric, acid oxalacetic, riboză, sedoheptuloză, NADPH etc.), iar pe de altă parte de faptul că masa hepatică rămasă după hepatectomie trebuie să suplinească activitatea funcțională a unui ficat de volum normal (792), (951).

În *faza de hipertrofie* are însă loc o augmentare a cantității de glicogen din hepatocite. Histochimic s-a stabilit, la 7 zile după amputare, o repartizare inegală a glicogenului în ficatul regenerativ: zone conținînd celule cu granule de glicogen situate de obicei în jurul venei centrolobulare și zone lipsite de glicogen; un gradient periferie — centru cu augmentarea cantității de glicogen spre centrul lobulului. La 14 zile după amputare, cantitatea de glicogen este în creștere, care ține pînă la 21 de zile; apoi, pînă la 35 de zile, glicogenul rămîne constant. În perioada 21—35 de zile se constată o foarte ușoară neuniformitate în repartiția glicogenului în lobulul hepatic (947), (951) (fig. 46). Sînt însă unii autori (698) care consideră că, la 15 zile după amputare, glicogenul este scăzut.

Substanțele PAS-pozitive diminuează în țesutul interstițial hepatic între 5 și 14 zile, paralel cu topirea substanței fibrilare argentofile, și augmentează între 24 și 35 de zile, paralel cu recondensarea aceleiași substanțe (947).

Din toate aceste date rezultă că scăderea cantității de glicogen este datorată probabil consumului de substanțe energetice din cursul perioadei de hiperplazie, iar creșterea ei încetării proliferării și acumulării de material energetic în celulele hipertrofiate.

Anumite cercetări (970), (971) au demonstrat că, în primele 5 luni de la hepatectomia parțială, se mai constată o augmentare a cantității de glicogen, scăderea glicogenului hepatic, spre limita sa normală, începînd doar după 11 luni de la amputare. Aceste date au fost confirmate și de cercetările noastre (953), (954), care au arătat că, în urma rezecției a 25% din masa hepatică, se mai constată, la 1 an după amputare, o incapacitate glicogenopexică a unor zone parenchimatoase ale ficatului regenerat (fig. 47).

Cantitatea de acid-N-acetil-neuraminic, indicator al cantității de glicoproteine, diminuează puternic în ficatul de șobolan la 24 de ore după amputarea acestuia; apoi crește progresiv, pentru a reveni la normal la 8 zile după operație. Sinteza substanței pare să preceadă pe cea a acizilor nucleici în faza de reparație (253).

Scanned with OKEN Scanner

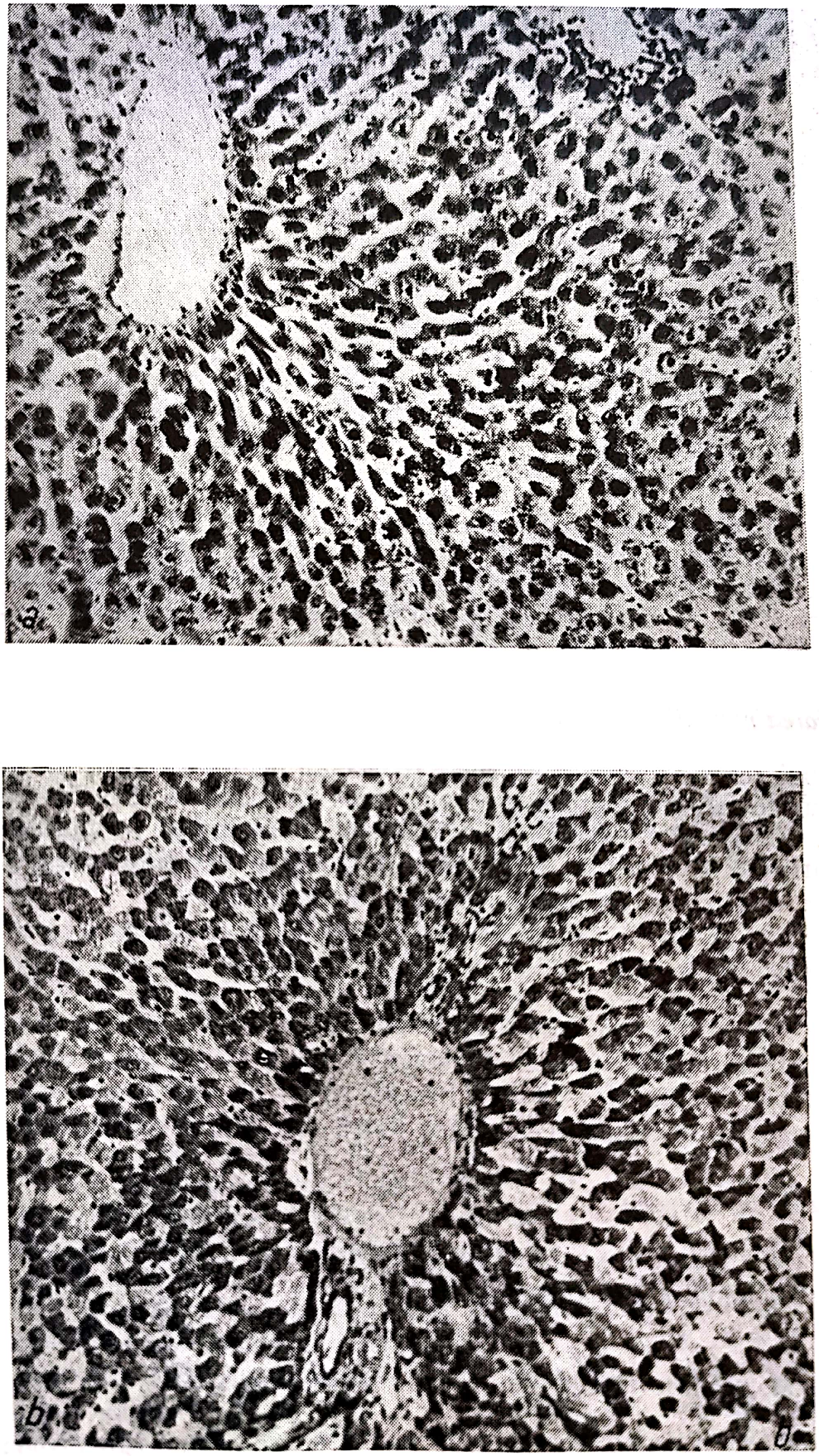


Fig. 46. — Distribuția glicogenului: *a*, în ficatul martor de șobolan; *b*, în ficatul regenerativ de șobolan la 35 de zile de la amputarea a 60% din masa hepatică.

Scanned with OKEN Scanner

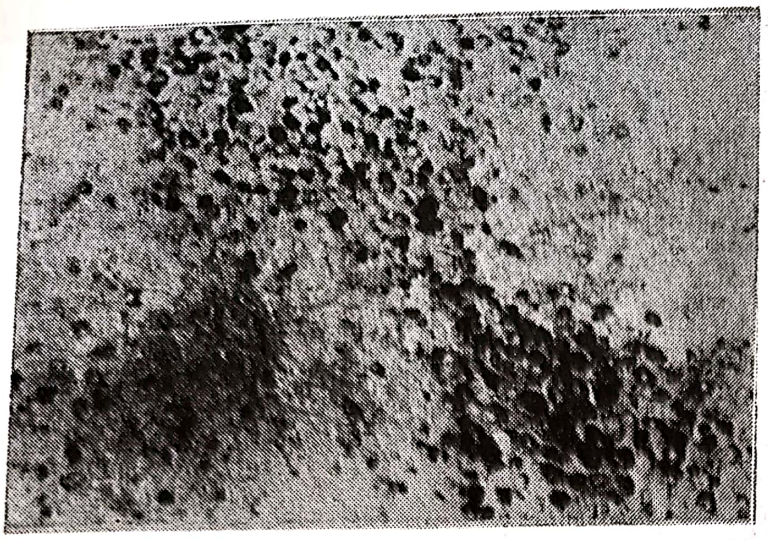


Fig. 47. — Distribuția mucopolizaharidelor în ficatul regenerativ de șobolan la 1 an după amputarea a 25% din masa hepatică.

Regenerarea țesutului osos și cartilaginos

În decursul regenerării țesutului osos și cartilaginos, după fracturile experimentale la iepuri, se constată, între ziua a 7-a și ziua a 55-a, cînd se termină formarea calusului osos, o scădere progresivă a hexozaminelor și a mucopolizaharidelor (587), scădere care pare a fi în legătură cu rolul acestor substanțe în procesele de colagenizare.

Regenerarea mușchilor scheletici și cardiaci

Glicogenul scade în fibra musculară lezată, se menține scăzut în mioblaste, apare sub formă granulară în miotubi, după care devine difuz în toată citoplasma. Glicogenul are tendința de a deveni mai abundent pe măsură ce fibra se maturizează (86), (229). Acumularea de glicogen este caracteristică și mioblastelor neoformate din țesutul cardiac în regenerare.

Regenerarea corneei

În urma unei injurii mecanice a epiteliului cornean la embrionul de găină, se constată (1333) că regenerarea este însoțită mai întîi de o descreștere a cantității de mucopolizaharide. Aceste substanțe își vor reîncepe augmentarea odată cu diferențierea celulelor regenerative, luînd totodată și un aspect granular.

Regenerarea suprarenalei

Se constată augmentarea cantității de glicogen în decursul regenerării cortexului suprarenal enucleat parțial (139).

Lipidele și metabolismul lor în cursul regenerării

Dintre puținele cercetări efectuate la amfibii, se pot cita cele care demonstrează existența unei creșteri a picăturilor lipidice în celulele regenerative ale membrelor tritonului adult (1042).

Scanned with OKEN Scanner

Studii mai ample privind situația lipidelor au fost efectuate în regenerarea ficatului după hepatectomie parțială la șoarece și la șobolan (19), (34), (45), (69), (71), (227), (228), (517), (558), (745), (751), (953), (954), (979), (1247). S-a constatat, la 2—3 zile după amputare, existența unei acumulări foarte abundente de lipide (încărcare grasă) în hepatocitele ficatului pe cale de regenerare. Unele cercetări au arătat că lipidele, în special grăsimile simple, se sintetizează începînd de la 10 ore după amputare, atingînd valoarea maximă între 24 și 72 de ore. Urmează apoi o scădere treptată pînă la 10—15 zile, cînd situația lipidelor se normalizează (745), (751), (954). Monoaminofosfatidele (lecitina, cefalinele) prezintă o creștere moderată în cursul întregii regenerări. Sfingomielina și cerebrozidele nu prezintă însă modificări în cursul regenerării hepatice (745), (751). Unii autori (69), (71) consideră că augmentarea lipidică totală are loc în primele 6 zile după hepatectomie, lipidele rămînînd peste valoarea lor normală și la 8 săptămîni după hepatectomia parțială. Această creștere s-ar datora, în primul rînd, trigliceridelor, dar totodată și colesterolului și fosfatidelor.

Cercetările noastre (951), (953) au demonstrat că infiltrația grasă se regăsește chiar într-un stadiu foarte tardiv după hepatectomia parțială a șobolanului. Este cazul în amputarea a 25% din masa ficatului, cînd infiltrația grasă se regăsește chiar la 1 an după amputare.

Pentru unii autori (228), (558), augmentarea grăsimilor ar fi provocată de tulburări metabolice, în cursul cărora ar avea loc o acumulare pasivă de grăsimi, în special trigliceride, colesterol și fosfatide. Această acumulare nu implică însă o sinteză mărită de grăsimi și s-ar baza pe faptul că ficatul nu poate elimina, în circulație, suficiente lipoproteine. Cercetările electronomicroscopice ale lui BADE (45) au condus la ipoteza că steatoza regenerativă este o pinocitoză, o mărire a transferului de grăsimi din spațiile Disse în celulele hepatice, în vederea satisfacerii necesităților energetice ale celulelor în regenerare.

Cercetările moderne au arătat că acumularea de lipide în decursul regenerării este efectuată în vederea unui scop energetic. HRADIL și colab. (517) consideră că steatoza este o necesitate, în sensul că lipidele aduc cu sine energia necesară reacțiilor metabolice intensive ce apar în regenerarea hepatică. Observînd că steatoza este prezentă în etapa hiperplazică și că augmentarea maximă de lipide este paralelă cu cea mai intensă diviziune celulară, MAROS și SERES-STURM (745) susțin, pe drept cuvînt, că lipidele au un rol energetic în declanșarea undelor mitotice, existînd o strînsă interrelație între gradul steatozei și intensitatea mitozei. După autorii citați, concentrația lipidelor înainte de primul val mitotic reprezintă o importantă sursă de energie în procesul diviziunii cariokinetice, stimulînd și procesul de amitoză, singurul capabil de a explica creșterea ponderală a ficatului. Alte cercetări (979) au stabilit că fracțiunile lipidice, în primul rînd grăsimile simple și cele fosfatidice, au o acțiune stimulatorie asupra cariokinezei. Din aceste date rezultă că apariția lipidelor neutre are un caracter biotrofic mitogen (745), (751).

S-a mai stabilit (227), (745) că acumularea intensă a lipidelor în perioada hiperplazică a regenerării ficatului este însoțită de o diminuare a glicogenului, a acizilor nucleici și de intensificarea acțiunii fosfatazei alcaline, pe cînd scăderea treptată a lipidelor din hepatocite este paralelă cu acumularea de glicogen.

Scanned with OKEN Scanner

În fine, în regenerarea cortexului suprarenal la șobolani (65), (240), (418), (425), (473), (1288) are loc o diminuare inițială a lipidelor și a α-cetosteroizilor. Procentul normal de lipide și de cetosteroizi începe să se restabilească între 30 și 60 de zile după lezare, în funcție de distanța de la locul necrozării (fig. 48).

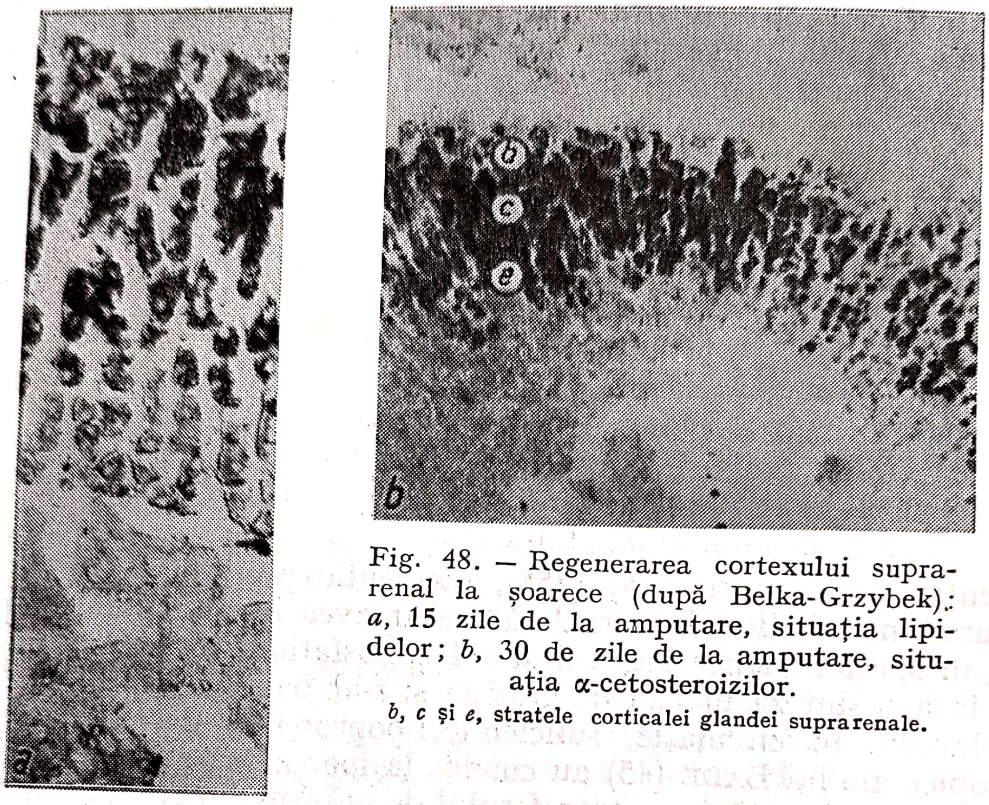


Fig. 48. — Regenerarea cortexului suprarenal la șoarece (după Belka-Grzybek): *a*, 15 zile de la amputare, situația lipidelor; *b*, 30 de zile de la amputare, situația α-cetosteroizilor.
b, *c* și *e*, stratele corticalei glandei suprarenale.

Modificările acidului dezoxiribonucleic (ADN) în cursul regenerării

Regenerarea organelor periferice

Regenerarea epiteliului

În regenerarea mustății de pește (barbun), reacția Feulgen, prin care se detectează prezența ADN și care în mustața normală este accentuată în nucleii celulelor bazale ale epiteliului, își schimbă aspectul. La 2 ore după amputare, reacția Feulgen devine intensă în pătura epitelială mijlocie și în pătura profundă a epiteliului apical de regenerare; la 4 ore este mai puternică în straturile profunde ale epiteliului; la 24 de ore devine mai slabă și se menține ca atare timp de 3 zile. Din zilele 4—7, reacția Feulgen revine la normal (939).

În regenerarea cozii la amfibiile urodele (triton), reacția Feulgen, care este slabă în nucleii celulelor epiteliale ale cozii normale, suferă modificări. Astfel, în primele 24 de ore de la amputare, reacția devine intensă în nucleii celulelor epiteliului apical regenerativ. Odată epitelializarea terminată (24 ore), reacția slăbește în intensitate în aceste celule (938). Totuși, în ziua a 12-a se constată apariția unei noi sinteze de ADN în epiteliul regenerat (944).

Scanned with OKEN Scanner

În regenerarea membrelor la *Triton viridescens*, folosindu-se metoda încorporării timidinei marcate, care permite studiul sintezei ADN, s-a constatat că celulele epiteliului apical al membrelor în regenerare încorporează slab timidina în primele 2 zile de la amputare (fig. 49, *a*). În perioada 3—20 de zile, fază în care se edifică blastemul, încorporarea timidinei este nulă în epiteliul apical, pentru ca să reînceapă între zilele 20 și 28, moment în care blastemul este consolidat și începe alungirea regeneratului. Prin urmare, sinteza de ADN are loc în epiteliul apical atît în primele două zile, cît și între 20 și 28 de zile după amputare. Lipsa sintezei de ADN între zilele 2 și 20 demonstrează că acest țesut nu se diferențiază și nu participă la edificarea blastemului în perioada menționată. Se pare că stoparea sintezei de ADN la nivelul epiteliului apical este legată de sinteza de proteine -SH de la acest nivel, proteine cu rol important morfogenetic în regenerare (490).

În regenerarea cozii la reptile *(Emys, Testudo)*, reacția Feulgen, care, în coada normală, este intensă în celulele epiteliale bazale și slabă în nucleii stratului intermediar al epiteliului, suferă anumite modificări. De la 12 la 24 de ore de la amputare devine foarte puternică în celulele rețelei plasmatice care acoperă plaga și în nucleii celulelor epiteliale bazale. Aspectul descris se menține ca atare pînă la 9 zile de la amputare (939).

În regenerarea pielii la șobolan, reacția Feulgen este intensă între 24 și 48 de ore de la lezare doar în celulele care formează crusta. În tot decursul regenerării, nucleii celulelor epiteliale sînt însă ADN slab pozitivi (1414).

În regenerarea pielii la purcei (după arsură), nucleii celulelor profunde ale epiteliului se îmbogățesc în ADN în primele ore după lezare. Regenerarea epidermului se face pe socoteala acestei zone bogate în ADN (79), (80).

În regenerarea pielii umane (după arsură), cantitatea de ADN crește la 4 zile după lezare atît în stratul bazal, cît și în stratul spinocelular al epiteliului (1363).

Formarea blastemului de regenerare sau a țesutului de granulație

În regenerarea mustății de pește (barbun), reacția Feulgen, care în mustața normală este accentuată în corpusculii gustativi și în nervi și slabă în formațiunile conjunctive, rămîne nemodificată în țesuturile subepiteliale pînă la 7 zile după amputare (939).

În regenerarea cozii la triton, reacția Feulgen, care în coada normală este intensă în nucleii fibrocitelor și ai celulelor musculare, devine intensă, la 24 de ore de la amputare, și în nucleii histiocitelor (938). Sinteza de ADN începe, în blastemul de regenerare, odată cu formarea acestuia (a 12-a zi), accentuîndu-se apoi progresiv pînă la diferențierea blastemului (a 21-a zi) (944).

Folosindu-se metoda încorporării cu timidină marcată în regenerarea membrelor la triton, se constată că țesuturile subepiteliale încep sinteza de ADN doar la 4—5 zile după amputare, în cursul perioadei de dediferențiere și de formare a blastemului. Sinteza începe în țesuturile bontului regenerativ (mușchiul dediferențiat, periost, teaca nervoasă și țesutul conjunctiv lax), la o distanță de 1 mm proximal de suprafața de amputare. În momentul în care blastemul este format (8 zile), celulele subepiteliale accentuează încor-

Scanned with OKEN Scanner

porarea de timidină marcată. Între zilele 10 și 20, faza în care are loc o acumulare distală a blastemului, celulele blastemului încorporează foarte puternic timidina. În cursul consolidării și al creșterii blastemului (20—28 zile), se constată o încorporare foarte activă de timidină, încorporare care începe să scadă în ziua a 28-a (490) (fig. 49, *b-f*).

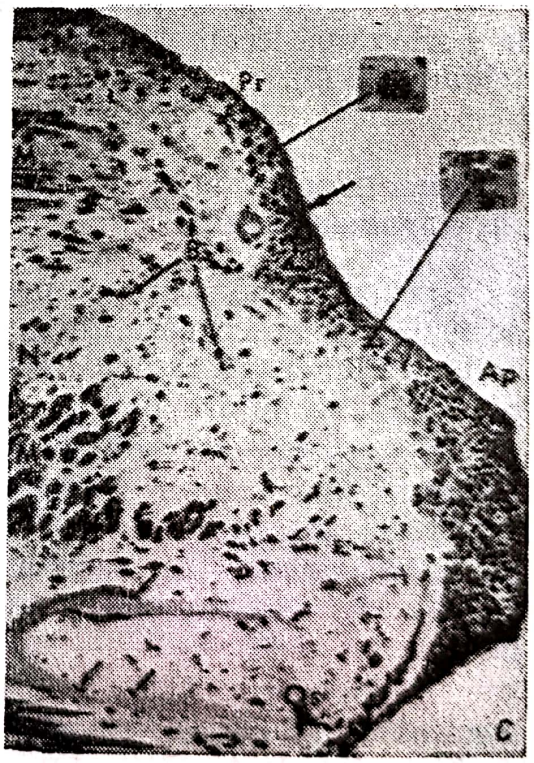
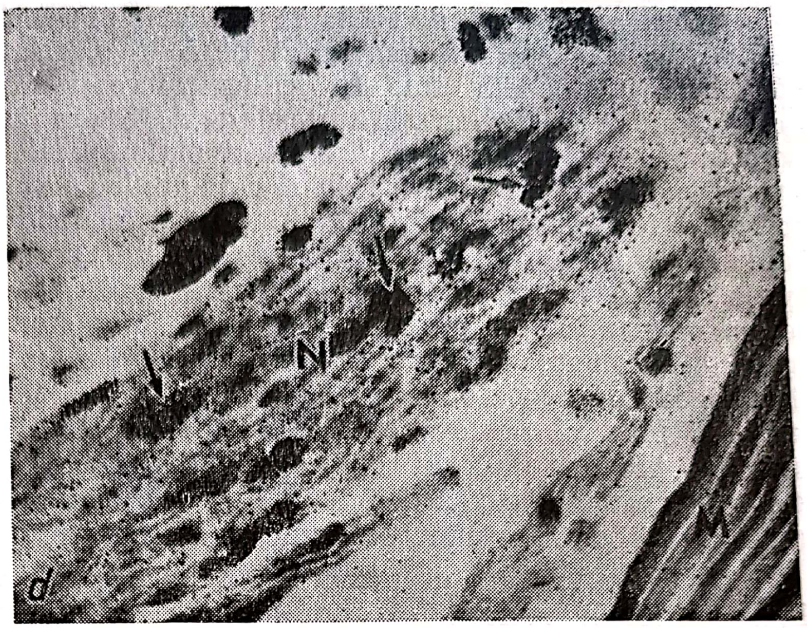


Fig. 49. (*a*, *b*, *c*). — Încorporarea timidinei marcate (după Hay și Fishman):

a, în epidermul regenerativ al membrului de triton la o zi după amputare. *b*, în porțiunea distală a regeneratului membrului de triton la 8 zile după amputare: *w*, celule sanguine; *p*, celule pigmentare; săgețile indică marginea dintre epiteliul proximal și cel apical, relativ puternic marcată. *c*, în porțiunea distală a regeneratului membrului de triton la 18 zile după amputare: *Pr*, epiteliu proximal; *Ap*, epiteliu apical; *B*, celule blastemale neoformate; *Os*, osteoclaste; *M*, mușchi; *N*, nervi; săgeata indică joncțiunea dintre epiteliul apical și cel proximal; măririle alăturate evidențiază că epiteliul apical încorporează slab timidina, pe cînd epiteliul proximal o încorporează puternic.

Scanned with OKEN Scanner



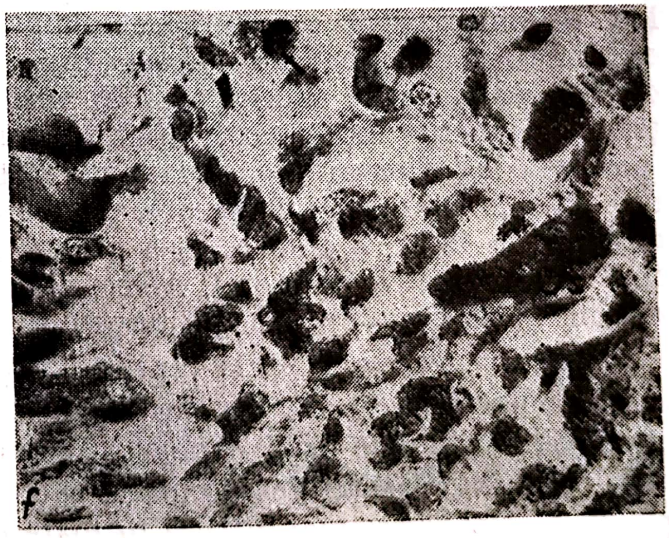


Fig. 49 (*d*, *e*, *f*). — Încorporarea timidinei marcate (după Hay și Fishman):
d, În nervul unui regenerat de membru de triton la 20 de zile după amputare: *N*, nerv; *M*, mușchi. *e*, În celulele blastemale ale unui regenerat de membru de triton de 10 zile; săgețile marchează celulele blastemale, pe cînd osteoclastele nu sînt marcate. *f*, În celulele blastemale ale unui regenerat de membru de triton la 15 zile după amputare: *Os*, osteoclaste.

Scanned with OKEN Scanner

Așadar, sinteza de ADN în celulele subepiteliale are loc cu mult mai tîrziu decît în epiteliu, cantitatea de ADN augmentînd evident în blastem în cursul perioadelor sale de dediferențiere și de creștere. Această sinteză este paralelă cu diminuarea sintezei de ADN din epiteliu. Cantitatea de ADN crește apoi progresiv în celulele blastemale pe cale de consolidare și de creștere pînă în stadiul de diferențiere, cînd are loc o diminuare. Se poate conchide că celulele blastemale provin din țesuturile dediferențiate interne. Această augmentare este de scurtă durată în epiteliu, unde are loc numai la debutul procesului regenerativ, pentru a dispărea mai tîrziu, atunci cînd începe edificarea blastemului, și pentru a reapărea atunci cînd blastemul este consolidat și începe alungirea regeneratului. Se pare că sinteza de ADN la nivelul epiteliului poate fi legată de faptul că, la acest nivel, nu are loc o sinteză de proteine -SH cu rol morfogenetic. Augmentarea sintezei de ADN la nivelul blastemului poate fi pusă în relație cu numeroasele diviziuni celulare și cu sinteza de proteine necesare în cursul diferențierii. Dealtfel, sinteza de ADN diminuează odată ce punctul maxim al sintezei proteinelor este depășit (490).

ADN variază de asemenea în diferitele etape ale procesului regenerativ la membrele de axolotl. Cercetări biochimice au arătat că în țesuturile extremităților la axolotl cantitatea de ADN este foarte redusă în prima zi după amputare (1241). Încorporarea de timidină marcată este foarte precoce în diferitele țesuturi ale membrului regenerativ de axolotl, cu mult înainte de apariția transformărilor histologice notabile. Se constată existența a două perioade maxime de încorporare: una la începutul stadiului de dediferențiere și alta odată cu formarea blastemului. Astfel, la 2 ore de la amputare, se observă o încorporare de timidină marcată în toate țesuturile bontului, dar în mod particular în nervi, al căror rol a fost bine stabilit în stadiile precoce ale regenerării. Această încorporare devine mai intensă la 2 zile după amputare. La 4 zile, marcajul dispare aproape complet, pentru a deveni iarăși foarte intens între 11 și 18 zile, localizat însă de astă dată în celulele pe cale de migrare sau în celulele deja acumulate sub vîrf, țesuturile bontului fiind inactive în această perioadă (643).

ADN variază și în diferitele etape ale procesului regenerativ la mormolocii de amfibii. Prin cercetări histochimice s-a arătat că, în cazul regenerării cozii mormolocilor de *Xenopus laevis*, în prima perioadă a regenerării (pînă la 24 de ore) ADN scade considerabil în toate țesuturile regeneratului (epiteliu, țesut conjunctiv subepitelial, țesut muscular degradat). În a doua perioadă (perioada de dediferențiere, situată între 24 și 72 de ore) se constată o augmentare a ADN între 24 și 48 de ore, pentru ca apoi să apară o scădere considerabilă între 48 și 72 de ore. În a treia perioadă (perioada de diferențiere, situată între 72 și 120 de ore), ADN scade în celulele țesutului muscular, dar rămîne nemodificat în celulele țesutului conjunctiv și nervos (341).

În regenerarea cozii la reptile *(Emys, Testudo)*, reacția Feulgen, care în coada normală este intensă în celulele conjunctive ale corionului, în celulele musculare și în cele cartilaginoase suferă modificări. Între 12 și 24 de ore de la amputare, reacția devine foarte intensă în celulele conjunctive din jurul plăgii; la 3 zile este mai intensă în toate elementele plăgii comparativ cu țesuturile din jur. La 5 zile de la amputare, reacția Feulgen începe să diminueze, pe măsură ce ne îndepărtăm de plagă, în țesuturile din jurul acesteia, aspect care se păstrează pînă la 9 zile după amputare (939).

Scanned with OKEN Scanner

În ceea ce privește modificările ADN în procesele regenerative ale pielii la mamifere, ele sînt variate. În regenerarea pielii la iepuri, se constată o creștere a ADN (686). În regenerarea pielii la șobolan, ADN se formează, în cantitate mare, în jurul zilei a 8-a, după care sinteza lui încetează curînd (1422).

Astfel, în regenerarea pielii la șobolan, în primele 24—48 de ore de la lezare ADN este în cantitate mare în majoritatea celulelor din țesuturile subepiteliale, îndeosebi în limfocite și în polinucleare. La 3 zile de la amputare, leucocitele și celulele migratoare, deci majoritatea celulelor țesutului de granulație, prezintă o reacție Feulgen intens pozitivă. În schimb, cantitatea de ADN din fibroblaste este mai scăzută. Situația se menține astfel pînă la 7 zile, cînd numărul elementelor celulare, avînd un ADN intens pozitiv, devine foarte mare, cu excepția celulelor stratului vascular, unde cantitatea de ADN este mai slabă. Și la 15 zile de la lezare se observă aceeași situație. Deci, elementele care au un conținut bogat în ADN sînt polinuclearele și limfocitele. Numărul lor este mai mare în prima perioadă a refacerii și descrește odată cu formarea țesutului de granulație. Pe măsura scăderii acestor elemente, crește numărul celulelor avînd o cantitate mai redusă de ADN. Între 7 și 15 zile, numărul celulelor conținînd o mare cantitate de ADN crește din nou (1414).

Cercetări efectuate prin metoda încorporării P^{32} au arătat că, în regenerarea pielii umane, cantitatea de ADN crește în țesutul de granulație pînă la 8 zile de la lezare, moment în care atinge un maxim (430).

Se poate deci conchide că, odată cu debutul regenerării, ADN augmentează intens în celulele subepiteliale ale țesutului de granulație. După o anumită perioadă, paralel cu augmentarea lui generală în celulele țesutului de granulație, limfocitele și polinuclearele prezintă o încărcătură mult mai ridicată de ADN decît limfoblastele. Procesul augmentării cantității de ADN durează pînă în momentul în care începe diferențierea blastemului, cînd această cantitate începe să scadă.

Din toate aceste date rezultă că ADN apare, la toate vertebratele, mai repede în țesutul de granulație decît în blastemul de regenerare. Cercetările arată că există o relație indubitabilă între augmentarea cantității de ADN și procesele proliferative ale regenerării, precum și între augmentarea ADN și sinteza proteinelor necesare morfogenezei.

Regenerarea organelor interne

Regenerarea ficatului

Studiul distribuirii ADN, depistat prin reacția Feulgen, în regenerarea ficatului de iepure după hepatectomie parțială intralobară arată că acizii nucleici augmentează cantitativ la nivelul plăgii și al ducturilor biliare proliferative (940), (941).

În regenerarea ficatului de șoarece sau de șobolan după hepatectomie parțială, diferite studii histochimice, biochimice, prin folosirea atomilor marcați (P^{32}, acidul orotic-6-C^{14}), au stabilit că hepatectomia parțială este urmată de o augmentare a nivelului ADN în perioada proliferativă și de o scădere treptată a acestuia în perioada de hipertrofie a regenerării ficatului

Scanned with OKEN Scanner

(57), (204), (234), (273), (288), (363), (495), (496), (629), (634), (823), (824), (951), (1099), (1248). Un singur autor (227) semnalează scăderea ADN în cursul perioadei proliferative.

Debutul augmentării ADN este diferit, autorii care l-au cercetat stabilind că augmentarea pare să fie corelată cu valurile de mitoze ce apar în ficat. Astfel, DRAGONCEA și CILIEVICI-ZELEANU (273) consideră că în ficatul pe cale de regenerare apar două valuri mitotice, la 24 și la 48 de ore de la amputare, precedate de două puncte maxime ale sintezei ADN, acidul dezoxiribonucleic diminuînd cantitativ în cursul mitozelor. După alți autori (629), (634), primul val mitotic ar apărea între 6 și 28 de ore, fiind un val precoce, intens și tranzitoriu.

Unii cercetători (57) sînt de părere că augmentarea cantității de ADN în regenerarea ficatului de șoarece are loc la 30—36 de ore după operație, cu un maxim la 36 de ore, după care urmează o scădere lentă pînă la un nivel constant. La șobolani, alți autori (204), (698), (824), (1248) au constatat că, după o perioadă inițială de stopare, are loc o augmentare a cantității de ADN, care își atinge maximul la 2—3 zile după amputare, perioadă urmată de o revenire lentă. S-a mai afirmat (495), (496) că sinteza de ADN începe la 10 ore după amputare, cantitatea de ADN augmentînd pînă la un maxim situat între 24 și 30 de ore și rămînînd intensă în următoarele două zile. Cercetările noastre (947), (950) au arătat că, în ficatul regenerativ de șobolan amputat 20—25%, ADN are un nivel ridicat chiar la 7 zile după amputare, cantitatea sa crescînd pînă la 14 zile, pentru ca apoi să scadă constant pînă la 35 de zile. În cazurile cînd se extirpă 60% din masa hepatică, aceste fenomene sînt mai accentuate (947) (fig. 50). Alți autori (698) consideră că restabilirea situației ADN are loc la 15 sau la 30 de zile după amputare (363). Unii cercetători (629), (634) apreciază că stocajul de ADN, care debutează la 24 de ore, nu se prelungește peste 25 de zile de la amputare. Acest stocaj ar fi rezultatul unui fenomen de endoploidie, în urma căruia ar lua naștere celulele cu 4—8—16 nuclei, fenomen care apare în ziua a 4-a, este intens în ziua a 9-a, cînd nucleii diploizi dispar, pentru ca după 15 zile ficatul să stocheze, săptămîni de-a rîndul, nuclei tetra- și octoploizi. Dealtfel, cercetări efectuate cu ajutorul P^{32} (234) au stabilit că augmentarea ADN în cursul mitozelor nu este datorată unei dedublări a ADN preexistent, ci unei adiții egale celei prezente prin formarea unei cantități suplimentare de ADN.

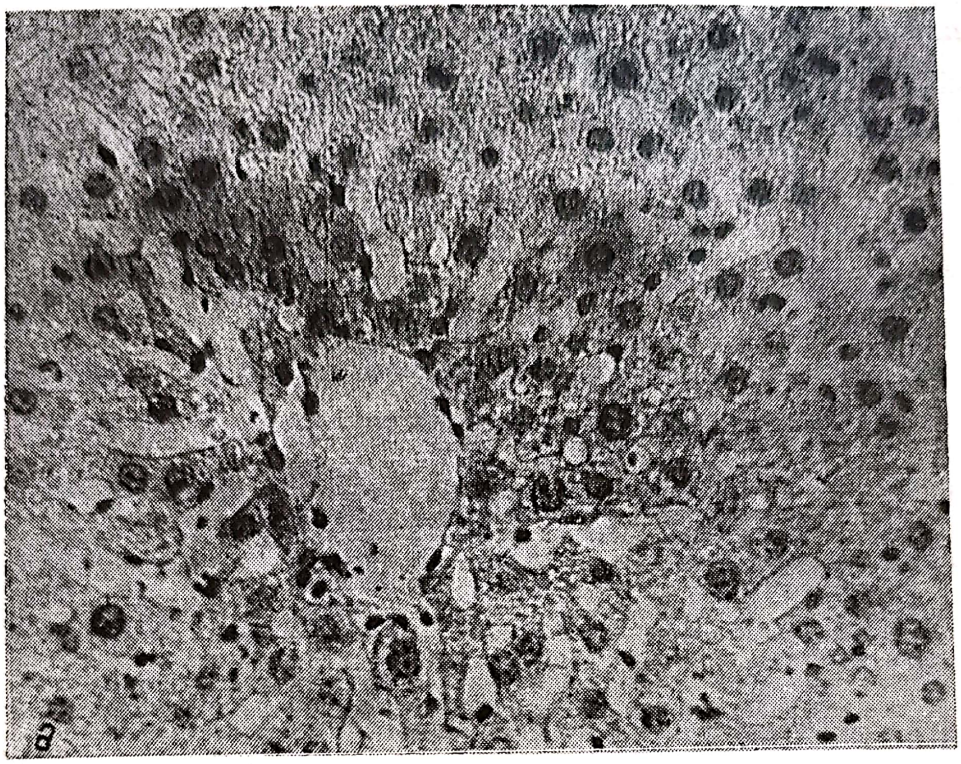
Din toate aceste date rezultă cu certitudine că augmentarea ADN are loc în stadiile timpurii ale regenerării hepatice, fiind urmată de o revenire lentă și o restabilire a situației la 25—30 de zile după amputare (954).

Totuși, unele cercetări efectuate pe ficatul regenerativ, la care s-a amputat 25% din masa hepatică, arată că augmentarea cantității de ADN persistă pînă la un stadiu foarte tardiv după amputare, adică pînă la 1 an (945).

Cercetările efectuate pe șoareci (57) au mai stabilit că intensitatea sintezei de ADN în cursul regenerării hepatice are loc după un ritm diurn anumit, fiind mai scăzută între orele 11 și 14 și mai ridicată între orele 8 și 11.

S-a mai constatat că intrarea hepatocitelor în ciclul de replicare are loc de la periferie spre centrul lobulului, iar inițierea sintezei de ADN din zona centrală este mai tardivă și mai limitată la un număr restrîns de celule decît în zona mijlocie și periferică a lobulului, unde, odată cu primul val mitotic, cvasitotalitatea celulelor sînt angajate în sinteza de ADN. Este sugerat

Scanned with OKEN Scanner



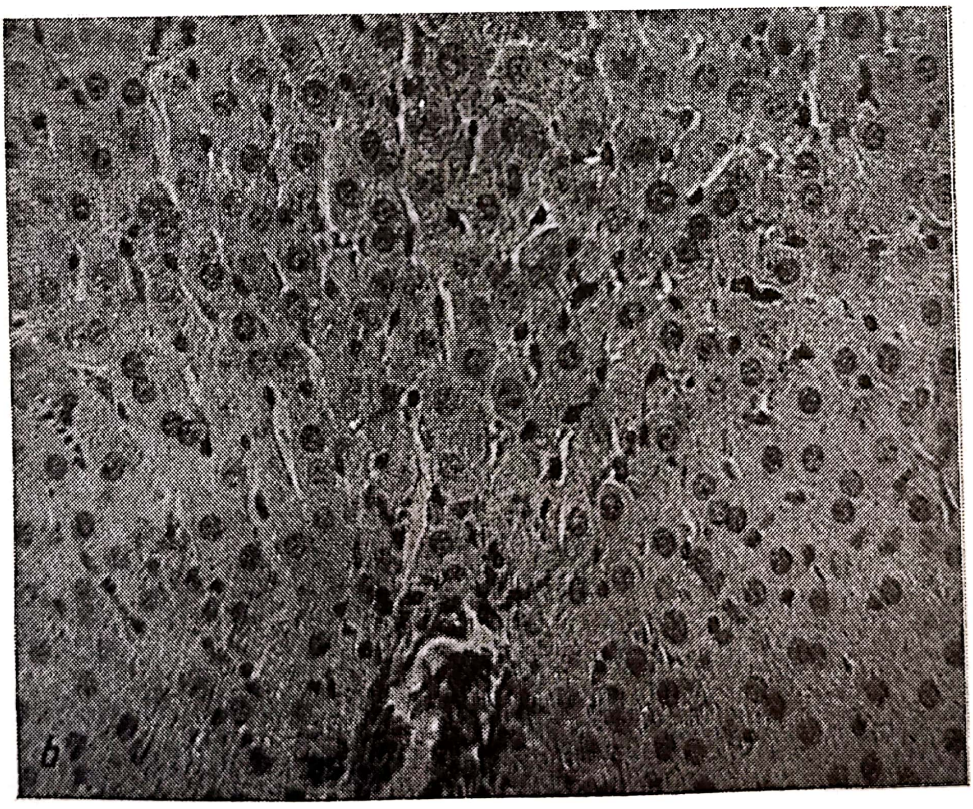


Fig. 50. — Situația ADN: *a*, în ficatul de șobolan normal; *b*, în ficatul regenerat la 35 de zile de la amputarea a 60% din masa hepatică.

faptul că aceste diferențe de comportament ale hepatocitelor pot fi puse în corelație cu diferențele de activitate metabolică dintre zona periferică și cea centrală a lobulului hepatic (283), (823), (1099).

Scanned with OKEN Scanner

Regenerarea musculară

În regenerarea mușchilor striați la șoareci, ADN scade sub valoarea sa normală în primele 6—7 zile după lezare, pentru ca apoi să augmenteze în nucleu și să scadă în sarcoplasmă (săptămîna a 2-a) (264). Creșterea cantității de ADN în fibra musculară lezată pe cale de regenerare poate fi pusă în corelație cu sinteza de proteine necesare acestui proces. În fine, ADN scade din nou în perioada de diferențiere a fibrei musculare (229), (1170).

Pe de altă parte, se semnalează (10) augmentarea cantității de ADN în mușchiul cardiac de șobolan pe cale de regenerare, fapt ce deosebește acest nivel al ADN de cel din mușchiul cardiac normal, unde ADN este în cantitate neglijabilă.

Regenerarea corticalei suprarenale

În regenerarea corticalei glandei suprarenale la șobolanii albinoși s-a constatat că, la 14 zile după ablația parțială, sinteza de ADN este concentrată în zona glomerulară și în stratul extern al zonei fasciculate a organului pe cale de regenerare (1288).

Regenerarea corneei și a cristalinului

În urma unei injurii mecanice a epiteliului cornean al embrionului de găină, se constată că elementele celulare regenerative se caracterizează printr-un înalt nivel de ADN, în special în celulele profunde și în particular în celulele în care au loc mitoze. Această caracteristică se menține în tot decursul regenerării (1333).

Atunci cînd cristalinul a fost extirpat la tritonul adult și s-a injectat intraperitoneal și precursorul specific al ADN (timidina marcată H^3) (fig.51),

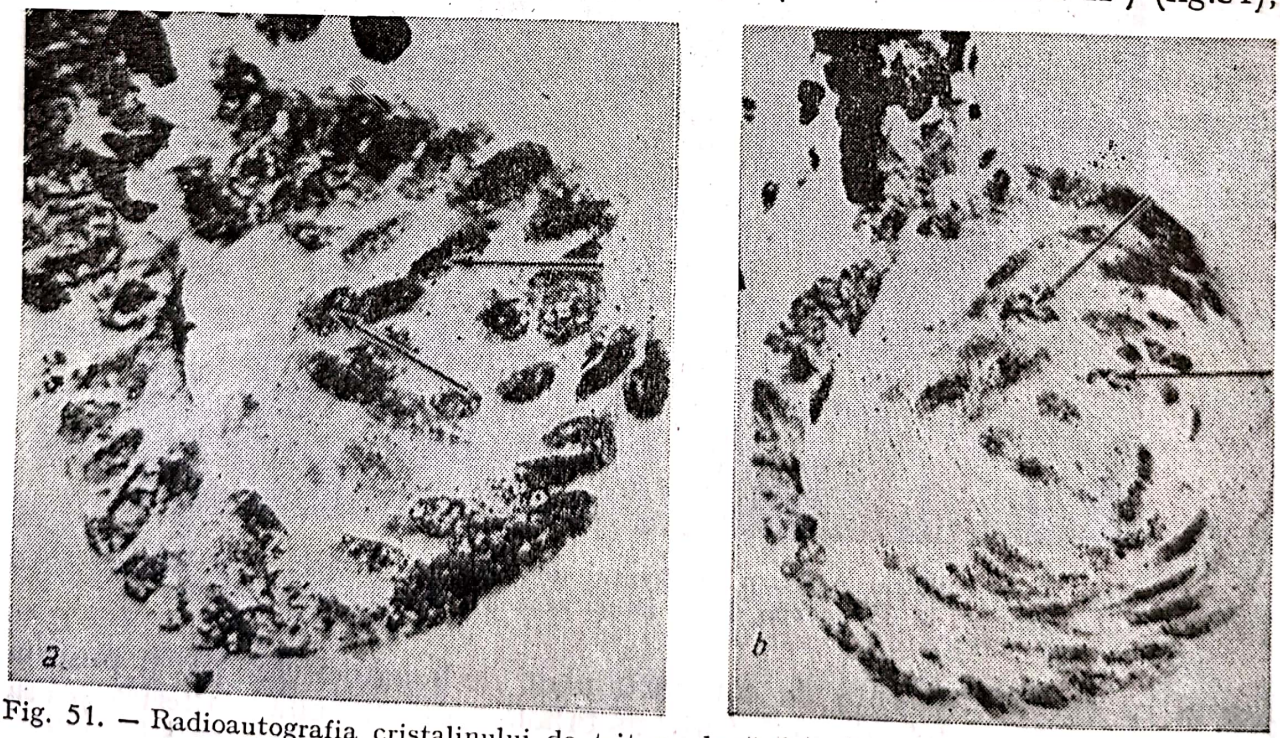


Fig. 51. — Radioautografia cristalinului de triton, după folosire de timidină marcată (după Reyer): *a*, regenerat în stadiul 8; *b*, regenerat în stadiul 9.

se constată inițierea sintezei de ADN prin apariția de nuclei marcați în epiteliul pigmentar al irisului, la 4 zile după lenectomie. Odată cu formarea veziculei cristaliniene noi din iris, se observă o diviziune mitotică continuă a celulelor păturii interne a acestei vezicule, însoțită de o replicare permanentă de ADN. Celulele care sînt marcate în epiteliul dorsal al irisului se regăsesc în toate regiunile cristalinului regenerativ. În momentul în care celulele lamei interne a veziculei cristaliniene încep să se alungească pentru a forma fibrele cristaliniene primare, sinteza de ADN încetează în aceste celule, dar continuă în celulele din alte părți ale veziculei și în restul epiteliului irian. Celulele din ariile îndepărtate continuă să sintetizeze ADN și să se dividă, celulele-fiice migrînd spre fibrele cristaliniene primare. Odată cu alungirea acestor celule, se constată încetarea diviziunii și a sintezei de ADN (982), (1234).

Din datele enunțate rezultă că ADN augmentează vădit în decursul dediferențierii și al creșterii regenerative, în special în celulele proliferative, fapt ce se poate pune pe socoteala sintezelor de proteine native necesare construcției regeneratului. În perioada de diferențiere sau de hipertrofie, cantitatea de ADN scade, pentru a înceta aproape total odată ce aceste procese sînt terminate. Fenomenul variază însă în raport cu țesutul, organul sau specia studiată. Astfel, de pildă, ADN diminuează în țesutul muscular, dar rămîne nemodificat în țesutul conjunctiv și nervos în cursul diferențierii regeneratului de coadă la *Xenopus laevis*.

Modificările acidului ribonucleic (ARN) în cursul regenerării

Puterea de regenerare a unui organ este legată, între altele, și de concentrația de ARN existentă în cursul regenerării. Este cunoscut faptul că o cantitate mare de ARN este prezentă în toate celulele în care sinteza de proteine are loc rapid, dată fiind relația directă dintre ARN și sinteza de proteine morfogenetice (10), (189). Există deci o relație precisă și directă între puterea regeneratoare a țesuturilor și organelor și posibilitatea lor de a forma ARN (10), (264), (524), (686), (1289), (1303). S-a constatat că în cursul regenerării crește bazofilia celulară, ceea ce poate fi considerat indirect ca un efect al augmentării ARN (189). Modificările ARN depind însă de țesutul, de organul sau de specia studiată. Cercetările efectuate la amfibii și la mamifere au arătat că, în general, ARN, spre deosebire de ADN, augmentează vădit chiar din primele faze ale regenerării, în anumite cazuri chiar imediat după lezare, creșterea avînd loc, în același timp și paralel, în epiteliu și în țesuturile profunde. Această augmentare premerge și întrece cantitativ pe cea a ADN și este în relație cu sinteza de proteine necesare edificării noilor structuri.

Regenerarea organelor periferice

Regenerarea epiteliului

În regenerarea înotătoarei caudale la pești *(Gambusia)* se constată că, la 48 de ore de la amputare, celulele stratului bazal al epiteliului regenerativ sînt foarte bogate în ARN (1104).

Scanned with OKEN Scanner

În regenerarea membrelor la amfibii (triton), ARN augmentează vizibil în epiteliul apical regenerativ din primele 24 de ore (490).

La mamifere, în general, ARN augmentează în epiteliul regenerativ, fiind în cantitate mare în cursul perioadei de dediferențiere și de creștere și scăzînd în cursul diferențierii regeneratului.

Astfel, în regenerarea epiteliului pielii de șobolan se constată că, la 5 zile după lezare, stratul bazal al epiteliului, precum și celelalte straturi epiteliale sînt bogate în ARN. La 12 zile de la lezare, stratul bazal și cel spinocelular prezintă o cantitate mai mare de ARN decît celelalte straturi (1414). Creșterea cantității de ARN din celulele epiteliale ar avea loc în urma dezagregării complexelor ribonucleoproteice cu punerea în libertate a ARN (1291).

ARN din pielea iradiată a șoarecilor, spre deosebire de șobolani, dispare din epiteliul regenerativ la 24 de ore după iradiere (463).

În regenerarea, după arsură, a pielii purceilor se stabilește că celulele epidermice marginale și profunde se îmbogățesc în ARN citoplasmatic și nuclear. Acestea sînt celulele pe socoteala cărora s-ar produce regeneratele epidermale pluristratificate. În celulele zonei mijlocii a epiteliului regenerativ, cantitatea de ARN este foarte scăzută (79), (80).

În regenerarea pielii umane, straturile profunde ale epiteliului proliferativ sînt mai bogate în ARN (78). Cantitatea de ARN este crescută în stratul bazal și spinocelular, la 4 zile după lezare (1363).

Formarea blastemului de regenerare sau a țesutului de granulație

Cantitatea de ARN este ridicată în cursul perioadei de dediferențiere și de creștere a blastemului, pentru a scădea odată cu diferențierea.

În regenerarea înotătoarei caudale la pești *(Gambusia)*, țesutul conjunctiv în proliferare este format, la 4 zile după amputare, din celule nediferențiate, bogate în ARN. Diferențierea fibroblastelor din aceste celule nediferențiate este însoțită de reducerea ARN (1104).

Cercetările efectuate la amfibiile anure s-au mărginit la studiul situației ARN în cursul regenerării cozii la mormoloci. S-a constatat astfel că ARN variază în blastemul de regenerare în diferitele etape ale procesului regenerativ al cozii mormolocilor de *Xenopus laevis*. Pînă la 24 de ore de la amputare, ARN rămîne nemodificat. În etapa de dediferențiere (24—72 ore), ARN crește cantitativ, rămînînd apoi la un nivel ridicat și în cursul etapei de diferențiere (72—120 ore) (341). În cursul regenerării cozii mormolocilor de *Bufo vulgaris* (182), (183), ARN crește la început pînă la un maxim situat în ziua a 2-a, diminuează la sfîrșitul zilei a 5-a, augmentează din nou pentru a atinge alt maxim în ziua a 7-a și descrește apoi pînă în ziua a 10-a, cînd ajunge la valori asemănătoare celor inițiale. Încorporarea acidului orotic-6-C^{14} are o desfășurare identică. Deci cantitatea de ARN și încorporarea acidului orotic-6-C^{14} se fac de-a lungul unei curbe bifazice, prima augmentare fiind legată de fenomenele regresive, iar a doua de sinteza noilor proteine. Rezultate identice au fost obținute și de BARAKINA (50), care a semnalat creșterea ARN în cursul fazei progresive a regenerării membrelor la larvele de anure

Cercetările efectuate la urodele au fost mai numeroase. În regenerarea cozii de triton, s-a arătat că ARN crește cantitativ în cursul perioadei de dediferențiere și de formare a blastemului, rămînînd ridicat pînă la începutul diferențierii, după care începe să scadă (493).

În regenerarea membrelor la diferite larve și adulți de urodele (32), (51), (103), (104), (274), (481), (487), (490), (643), (1069), (1081), (1143) s-a constatat că:

— ARN lipsește la triton aproape complet din țesuturile subepiteliale în primele 24 de ore de la amputare, spre deosebire de epiteliul apical, unde augmentează vizibil din primele faze ale regenerării (490).

— Sinteza de ARN începe sub epiteliu doar în perioada de dediferențiere și de formare a blastemului, paralel cu creșterea ADN. Această sinteză crește progresiv cu maturizarea și cu dezvoltarea blastemului, fiind mult mai intensivă decît cea a ADN, pentru a scădea în stadiul de paletă digitală (32), (103), (104), (274), (487), (490), (1069).

— În perioada de formare, maturizare și creștere a blastemului, augmentarea sintezei de ARN a fost stabilită pe mai multe căi. Astfel, cercetările la microscopul electronic (481) au arătat că granulele ribonucleice citoplasmatice sînt mult mai abundente și citoplasma devine difuz bazofilă, ceea ce denotă o sinteză activă de ARN. Cercetările autoradiografice după tratamentul cu precursori marcați ai ARN (uridină H^3) au demonstrat că încorporarea de uridină marcată augmentează în celulele blastemale în perioada amintită (103), moment în care scade în epiteliu. Alte cercetări (786) au arătat că o sursă de sinteză ARN în care uridina H^3 este încorporată în ARN 28S, 18S, 5S, 4S și ARN înalt molecular crește în cursul dediferențierii, acumulării și proliferării blastemului, atingînd un maxim în timpul formării primordiilor părților noi ale membrului anterior de triton adult. Odată aceste primordii schițate, sinteza fracțiunilor ARN scade substanțial, cu excepția ARN înalt molecular. Pe de altă parte, ARN heterogen este sintetizat, la nivele constante, între ziua a 10-a și stadiul formării primordiilor. La axolotl (643) se constată o încorporare foarte precoce a uridinei marcate, încorporarea prezentînd două perioade maxime: la începutul stadiului de dediferențiere (4 zile) și odată cu formarea blastemului (11—18 zile).

— Inervația controlează parțial sinteza de ARN (274). Scăderea sintezei de ARN în stadiul de paletă digitală este mult mai redusă în cazul denervării membrului în regenerare (274), fapt fără importanță însă pentru diferențierea membrului, dat fiind că procesul de diferențiere este independent de influența nervoasă după ce stadiul de con terminal a fost atins (1081), (1143).

În țesutul de granulație al plăgilor la mamifere, apariția și augmentarea cantității de ARN sînt mult mai precoce decît în blastemul de regenerare al vertebratelor inferioare, ARN apărînd din primele faze ale formării acestui țesut. Pe de altă parte, sinteza de ARN este mai puternică decît cea a ADN, chiar din primele stadii ale regenerării. Într-adevăr, cantitatea de ARN crește paralel cu formarea și cu maturizarea țesutului de granulație, fiind de 3 ori mai mare decît cea a ADN (1289), (1290). Unii autori (1422) consideră că,

Scanned with OKEN Scanner

la 8 zile după lezare, există o concentrare maximă a ARN în pielea de mamifere, concentrare urmată de o rapidă și marcată coborîre.

În regenerarea pielii la șobolan se constată, în primele 24 de ore de la producerea leziunii, o augmentare a ARN, mai ales în fibroblaste. În celulele migratoare care participă la formarea țesutului de granulație, cantitatea de ARN scade în celulele superficiale și este în augmentare în cele profunde. Augmentarea ARN are loc la cîteva minute după lezare. Astfel, în lezarea prin presiune mecanică se constată în primele minute augmentarea ARN în unele fibroblaste și scăderea lui în alte fibroblaste, pentru ca apoi, la 24 de ore, cantitatea de ARN să crească în toate fibroblastele (1289), (1290). Această situație se menține pînă la 3 zile după lezare, cînd cantitatea de ARN crește mai ales în jurul vaselor și în celulele migratoare (leucocite). La 5 zile de la lezare, stratul superficial și stratul vascular al plăgii sînt bogate în ARN, pe cînd stratul profund este sărac în ARN. În regiunile periferice ale stratului superficial, ARN este mai abundent decît în restul plăgii. În general, cantitatea de ARN crește paralel cu maturizarea țesutului de granulație. Regiunile marginale ale plăgii, unde procesul formării țesutului cicatriceal se face mai repede, au un conținut mai scăzut în ARN decît centrul plăgii. În fine, pe măsură ce are loc diferențierea țesuturilor subepiteliale, conținutul lor în ARN scade (1414).

După TSANEV (1289), (1290), creșterea ARN din țesuturile regenerative ale pielii la șobolan nu durează decît pînă în a 3-a zi, după care cantitatea de ARN începe să scadă. Creșterea ARN în fibroblaste ar avea loc în urma dezagregării complexelor ribonucleoproteice în ARN și proteine, cu punerea în libertate a ARN. Scăderea cantității de ARN ar fi datorată degradării ARN și activizării ARN-azei. În traumele reversibile, produșii de degradare ar servi la creșterea „*pool*-ului nucleotidic", necesar resintezei proteinelor. În cazul traumelor ireversibile, produșii de degradare ai ARN ar fi pierduți pentru celule.

În regenerarea pielii iradiate la șoareci, ARN începe să crească în țesutul de granulație la 48 de ore după lezare, creștere care se accentuează pînă la 96 de ore după lezare (463).

Regenerarea organelor interne

Regenerarea ficatului

În ficatul regenerativ de șobolan, după hepatectomie parțială se constată (1292) o scădere precoce de ARN, maximul de scădere fiind la o oră după operație, pentru ca apoi să înceapă o creștere din a 3-a oră de la operație. Această augmentare crescîndă merge pînă la un maxim atins, după unii autori (698), la 12 ore, iar după alții la 2—3 zile (204), (824), (1232), (1238), (1248). Augmentarea corespunde perioadei de proliferare a hepatocitelor. Unele cercetări autoradiografice, după administrarea de substanțe marcate (1203), au stabilit de asemenea că, în cursul primei unde de mitoze a parenchimului hepatic (22—39 ore), sinteza ARN nucleară și migrarea ARN din nucleu în citoplasmă cresc.

Scanned with OKEN Scanner

La șobolanii hepatectomizați parțial, între 30 de minute și 12 ore de la administrarea de acid orotic-6-C^{14}, acesta este inclus cu o mare intensitate în ARN nuclear și mai puțin în ARN citoplasmatic. După 12 ore de la administrare, sinteza ARN nuclear și citoplasmatic este identică, pentru ca apoi, după a 13-a zi, să diminueze (495), (496).

Cercetările noastre (947), (950) au stabilit că nivelul ARN rămîne ridicat chiar la 7 zile după hepatectomie, paralel cu cel al ADN. În conformitate cu alți autori (698), care consideră că la 15 zile după hepatectomia parțială ARN este încă crescut, cercetările noastre au arătat că, începînd cu ziua a 14-a și mergînd pînă în ziua a 35-a (trecerea de la dominarea hiperplaziei la dominarea hipertrofiei), cantitatea de ARN scade treptat (fig. 52, *a* și *b*).

Fig. 52. — Situația ARN: *a*, în ficatul de șobolan normal.

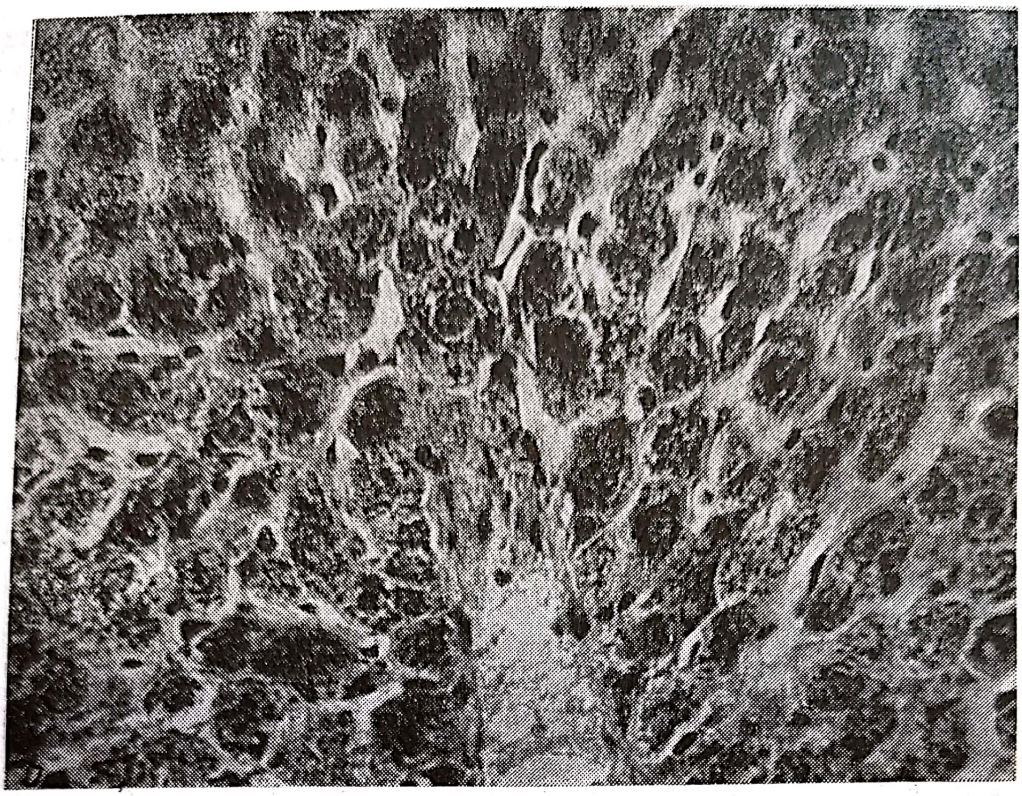
Unele cercetări (629), (634) sînt în dezacord însă cu aceste rezultate. După autorii citați, sinteza ARN nuclear ar fi întîrziată în comparație cu cea a ADN, începînd din ziua a 3-a și avînd un maxim în ziua a 7-a.

Se mai constată că ARN înalt molecular (neribosomal, nuclear) apare în cantitate semnificativă în regenerarea ficatului de șoarece (197).

În orice caz, trebuie relevat faptul că, în regenerarea ficatului de șobolan, faza de hipertrofie, care urmează celei de hiperplazie, este caracterizată prin diminuarea treptată a ARN.

Într-un stadiu tardiv după hepatectomia parțială de 25% din masa hepatică (la 1 an după ablație), cantitatea de ARN rămîne intensă în hepatocite (953), (954) (fig. 52, *c*).

Scanned with OKEN Scanner



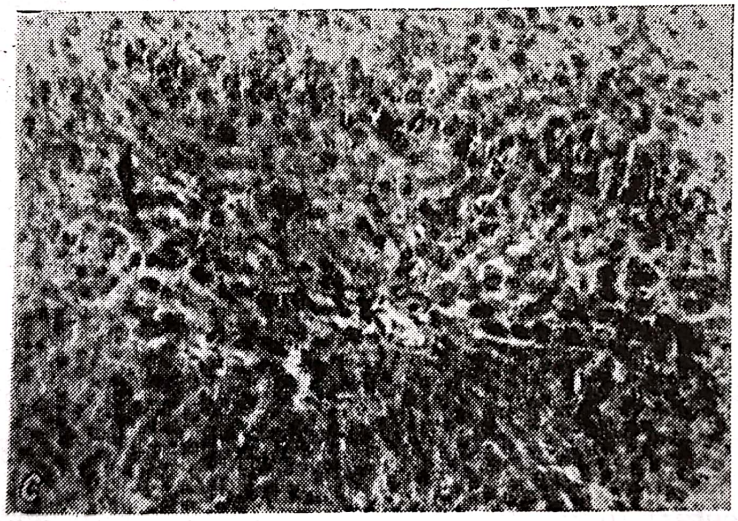


Fig. 52. — Situația ARN: *b*, în ficatul regenerat în a 14-a zi după amputarea a 60% din masa sa; *c*, în ficatul regenerat la 1 an după amputarea a 25% din masa sa.

Regenerarea mușchilor

S-a constatat că sinteza de ARN crește în prima fază, mioblastică, a regenerării musculare și scade în stadiul de miotubi, cînd numărul miofibrilelor devine mai mare, deci odată cu diferențierea. Bazofilia mioblastelor și a sarcoblastelor, datorită ARN, concordă cu marele număr de ribosomi din aceste structuri (230), (930), (1170). În mușchii striați ai șoarecilor tineri, regenerarea este

Scanned with OKEN Scanner

însoțită de augmentarea ARN între 2 și 7 zile (la începutul diferențierii mioblastelor), scăzînd apoi puternic între 17 și 30 de zile (264).

Dediferențierea mușchiului în cultură de țesuturi este însoțită de o puternică creștere a granulelor ribonucleoproteice libere, paralel cu creșterea proliferării celulare (481).

ARN din țesutul conjunctiv și din elementele musculare ale zonei de regenerare a miocardului la șobolan augmentează pînă la 10 zile de la lezare, perioadă în care se constituie premisele sintezei proteinelor, pentru a diminua apoi din ziua a 13-a. Pe cînd ARN din țesutul conjunctiv neoformat scade rapid, fibrele musculare neoformate mai conțin ARN chiar la 25—45 de zile de la operație. Este însă cert că, pe măsură ce țesutul conjunctiv devine mai dens, iar fibrele musculare degenerează în zona de cicatrizare, cantitatea de ARN scade în zona lezată (529), (921).

Regenerarea corneei și a cristalinului

În urma injuriei mecanice a epiteliului cornean al embrionului de găină, elementele regenerative se caracterizează printr-un înalt nivel de ARN îndeosebi în celulele profunde, și dintre acestea mai ales în cele în care au loc mitoze. Această caracteristică se menține în tot decursul regenerării (1333).

În cazul regenerării cristalinului din iris la triton, se constată o augmentare a sintezei de ARN (1436), la început la nivelul celulelor irisului, iar apoi punîndu-se în evidență un transfer al ARN sintetizat în nuclei către citoplasmă, transfer care se accelerează proporțional cu augmentarea cantitativă a ribosomilor, ceea ce indică instalarea unui nou mecanism de sinteză (575), (1059). După ce au primit în echipamentul lor informația necesară formării fibrelor, celulele regeneratului devin capabile de a produce ele însele sinteza moleculelor specifice.

Datele expuse cu privire la sinteza de ARN ne conduc la concluzia generală că, în decursul procesului regenerativ, cantitatea de ARN devine foarte mare în primele faze ale acestui proces, pentru a scădea odată cu diferențierea sau cu cicatrizarea regeneratului.

Modificările proteinelor în cursul regenerării

Formarea țesuturilor regenerative și histodiferențierea lor sînt însoțite de sinteza unei mari cantități de proteine, precedată însă de o proteoliză marcată (32), (51), (52), (248), (349), (1232). Polejaev (908) a arătat că, pentru refacerea capacității de regenerare, pierdută prin iradiere (la axolotl), este absolut necesară participarea proteinelor și a acizilor nucleici. Dealtfel, alte cercetări au stabilit că abundența în proteine a țesuturilor regenerative favorizează proliferarea țesutului de granulație.

Modificări în cantitatea aminoacizilor, a proteinelor, a azotului aminic și a glutationului au fost depistate în cursul procesului regenerativ de numeroși cercetători. S-au făcut astfel cercetări în regenerarea membrelor și a cozii amfibiilor urodele larvare sau adulte (32), (46), (51), (52), (104), (118), (155), 248), (262), (280), (490), (491), (633), (643), (837), (839), (942), (944), (1151), 1316), (1340), în regenerarea pielii la mamifere (79), (80), (171), (223), (280),

Scanned with OKEN Scanner

(371), (551), (838), (1228), (1289), (1290) și în regenerarea organelor interne la mamifere (21), (33), (40), (205), (528), (629), (634), (657), (707), (818), (832), (842), (867), (947), (950), (953), (1059), (1203), (1234), (1238), (1263), (1272), (1288), (1338), (1437).

Regenerarea organelor periferice

Regenerarea epiteliului

Cercetători care au folosit atomii marcați și autoradiografia (104) au observat, în regenerarea membrelor la triton, o încorporare masivă de metionină S^{35} în epiteliul apical la 24 de ore după amputare (fig. 53, *a*), cînd plaga este acoperită de un epiteliu, care are o reacție autoradiografică intensă, în contrast cu slaba reacție a celorlalte componente ale membrului. În zilele următoare, epiteliul regenerativ păstrează o concentrație mai ridicată a radioactivității sale decît celelalte țesuturi ale membrului, inclusiv epiteliul părții nelezate a membrului. Între zilele 5 și 10, epidermul este cel mai reactiv component al întregului regenerat (fig. 53, *b* și *c*).

Alte cercetări de aceeași natură, efectuate la *Triton vulgaris* și la *T. alpestris* (32), au confirmat, în urma folosirii tioaminoacizilor S^{35}, rezultatele menționate. Ele au demonstrat că, a 2-a zi după amputare și la 3 ore după injectarea aminoacidului marcat, se constată reducerea ratei de aminoacizi în epidermul scufiței apicale, existînd însă un puternic marcaj în celulele epiteliale ale bontului regenerativ. Rezultă deci că marcajul este mai puternic în epiteliul bontului regenerativ și mai puțin marcat în epiteliul migrator, unde sinteza este mai redusă. La 7 zile după amputare, se observă încă o slabă încorporare a aminoacidului marcat în celulele epiteliale ale scufiței apicale. La mijlocul celei de-a 3-a săptămîni de la amputare, în regenerat încorporarea rămîne mai puternică în epiteliul bontului regenerativ decît în epiteliul scufiței apicale, dar rata încorporării scade. În scufița apicală, încorporarea aminoacidului marcat este maximă în stratul germinativ neoformat.

Încorporarea leucinei marcate (32), la 10 ore de la amputare, este cu 200% mai mare în epidermul distal al bontului decît în cel proximal. Paralel cu aceasta se constată augmentarea reticulului endoplasmatic și a ribosomilor (1151). În celulele epiteliale care migrează către suprafața plăgii, încorporarea leucinei marcate este mult mai scăzută, rata de încorporare fiind concordantă cu cea a epiteliului proximal al bontului. În cursul migrării, încorporarea scade și în epiteliul distal al bontului regenerativ. La 57 de ore după amputare, încorporarea este scăzută în epiteliul distal al bontului și crescută la nivelul epiteliului plăgii. În faza de regresiune, activitatea epiteliului distal al bontului nu se schimbă prea mult, pe cînd cea a epiteliului plăgii crește cu 100%. O creștere considerabilă a sintezei proteice în epiteliul distal are loc în cursul formării blastemului și al proliferării sale. La începutul rediferențierii, activitatea de sinteză proteică a celulelor epiteliale rămîne neschimbată. La 30 de zile după amputare, atunci cînd epiteliul se subțiază, activitatea sintezei proteice scade mult. Ca urmare, activarea celulelor epiteliale din apropierea suprafeței de amputare este însoțită de o creștere a sintezei proteice (200%), dar aceleași celule, în migrarea lor peste plagă, au o sinteză considerabil redusă, deci își pierd posibilitățile de sinteză a proteinelor (32).

Scanned with OKEN Scanner

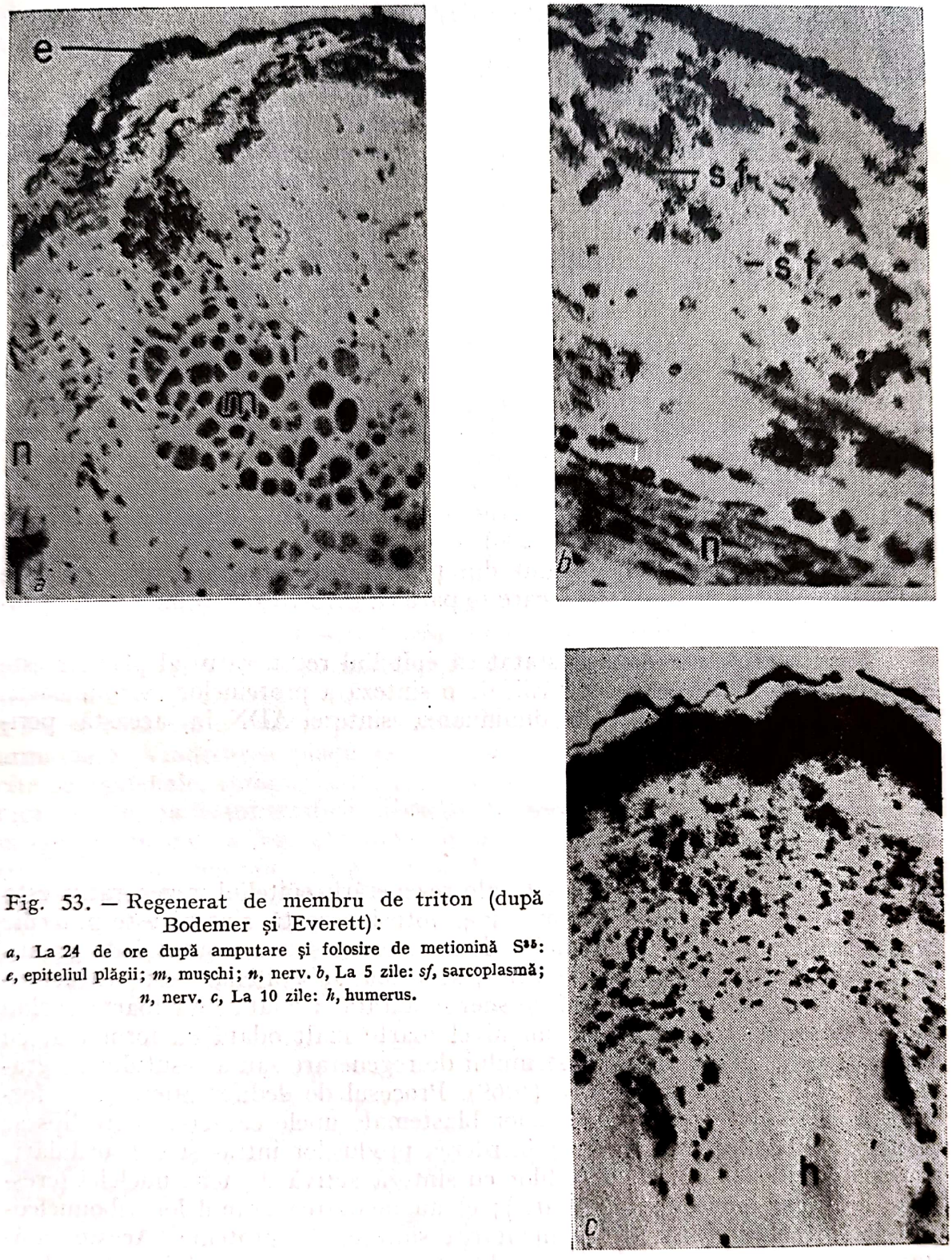


Fig. 53. — Regenerat de membru de triton (după Bodemer și Everett):
a, La 24 de ore după amputare și folosire de metionină S^{35}: *e*, epiteliul plăgii; *m*, mușchi; *n*, nerv. *b*, La 5 zile: *sf*, sarcoplasmă; *n*, nerv. *c*, La 10 zile: *h*, humerus.

Alte cercetări, întreprinse cu ajutorul prolinei marcate (491), au arătat că încorporarea prolinei se face în măsură mai mare în colagen, în fibroblaste și în epiderm.

Pe de altă parte, unele cercetări efectuate pe cale histochimică (942), (944) au stabilit lipsa sintezei proteinelor cu aminoacizi-SH în epiteliul

Scanned with OKEN Scanner

regenerativ în cea mai mare parte a desfășurării acestui proces de la nivelul cozii regenerative a tritonului. Această absență poate fi corelată cu sinteza redusă de ADN de la acest nivel.

Se poate conchide că, deși experiențele lui BODEMER și EVERETT (104), care au utilizat încorporarea metioninei marcate S^{35}, au surprins o puternică sinteză proteică în epiteliul regenerativ din primele faze ale regenerării, cercetările lui HAY și FISHMAN (490), precum și cercetările noastre personale (942), (944) au stabilit că sinteza proteică, și mai ales cea a proteinelor cu aminoacizi -SH, este absentă la acest nivel în această perioadă a epiteliului regenerativ. Ultima observație concordă, dealtfel, cu faptul că sinteza de ADN este absentă în epiteliul regenerativ în cursul primelor faze ale regenerării.

În ceea ce privește sinteza de proteine la nivelul epiteliului regenerativ, se constată că la mamifere, în regenerarea leziunilor epidermale la purcei (în urma unor arsuri), are loc, în primele ore după arsură, dispariția ribonucleoproteinelor din citoplasma celulară a epiteliului situat în vecinătatea rănii (79), (80). Se pare că trauma cauzează disociația ribonucleoproteinelor, ARN desfăcîndu-se din complexul proteic și degradîndu-se. Produsele de degradare ale ARN ar servi la creșterea fondului de nucleotide necesare resintezei proteinelor (1289), (1290).

Analiza exsudatului provenit din țesutul subepitelial al pielii vădește o mare bogăție în proteine, fapt care se pare că favorizează proliferarea țesutului de granulație (371).

La mamifere s-a mai constatat că epiteliul regenerativ al plăgilor este lipsit, în prima parte a regenerării, de o sinteză a proteinelor cu aminoacizi -SH, fapt care ar fi legat de diminuarea sintezei ADN în această perioadă (89).

Formarea blastemului de regenerare sau a țesutului de granulație

Cu toate că în fazele mai avansate ale regenerării epiteliul regenerativ este foarte reactiv în sinteza de proteine, totuși această sinteză este puternic evidentă și în evoluția blastemului de regenerare sau a țesutului de granulație. Prima perioadă a regenerării țesuturilor subepiteliale este caracterizată printr-o *proteoliză marcată* de scurtă durată, urmată însă foarte curînd de o *proteosinteză*, care atinge un nivel foarte înalt odată cu formarea, cu maturizarea și cu creșterea blastemului de regenerare sau a țesutului de granulație (32), (103), (104), (487), (1069). Procesul de dediferențiere și de formare a blastemului conferă celulelor blastemale unele caractere care lipsesc celulelor epiteliale, și anume: a) pierderea produșilor intra- și extracelulari; b) mărirea nucleilor și a nucleolilor cu sinteză activă de acizi nucleici (creșterea indicelui nucleo-citoplasmatic); c) augmentarea granulelor ribonucleoproteice citoplasmatice; d) augmentarea sintezei de proteine. Aceste constatări demonstrează că celulele dediferențiate ale blastemului încep o fază de sinteză a proteinelor intracelulare și a acizilor nucleici, care pregătesc o activitate proliferativă activă (104), (160), (238), (481), (483), (484), (1042), (1249).

Proteosinteza diminuează treptat odată cu diferențierea țesuturilor subepiteliale. Creșterea sintezei de proteine în cursul regenerării blastemului

Scanned with OKEN Scanner

sau a țesutului de granulație este legată de procesele proliferative, precum și de crearea materialului necesar edificării structurilor celulare diferențiate.

În timpul proteosintezei, care are loc în faza de formare, dezvoltare și maturizare a blastemului, crește numărul acizilor aminați, al substanțelor ninhidrinopozitive și, în special, al proteinelor -SH. Unele cercetări privind regenerarea cozii mormolocilor de *Xenopus* (262) au stabilit că, în cursul regenerării membrelor, există o creștere a azotului total și a materialului azotat ninhidrinopozitiv din blastemul regenerativ, creștere însoțită de diminuarea acestui material în bontul regenerativ. Cercetările noastre în ceea ce privește regenerarea cozii la triton (942), (944) au arătat că proteinele care predomină în cursul formării, maturizării și proliferării blastemului sînt proteinele cu aminoacizi sulfhidrilici, proteine absente la nivelul epiteliului regenerativ. Sinteza proteinelor începe odată cu formarea blastemului (a 12-a zi), pentru a crește progresiv pînă la diferențierea acestuia (a 21-a zi). Nivelul cel mai înalt de proteosinteză este atins în cursul consolidării blastemului, după care, odată cu diferențierea, începe diminuarea sintezei, paralel cu cea a sintezei de ADN.

Cercetările efectuate cu ajutorul aminoacizilor marcați au adus date prețioase la stabilirea desfășurării proteosintezei în regenerarea membrelor la amfibii. Au fost constatate abilitatea țesuturilor bontului de a se transforma în celule blastemale, activitatea metabolică din cursul mitozelor, precum și modificările celulare care au loc în faza de dediferențiere și de rediferențiere.

Studiul regenerării membrelor anterioare la *Triturus viridescens* la care s-a injectat metionină marcată S^{35} a evidențiat (104) că, între 24 de ore și ziua a 27-a de la amputare, au loc o serie de fenomene. Astfel, pînă în ziua a 5-a se constată o reacție puternică epidermală, care se menține și în zilele următoare. Vindecarea plăgii este completă; există o acumulare de fibrocite subepiteliale, caracterizate, ca și celulele scufiței apicale, printr-o puternică reacție radioautografică. Reacția mezodermică a țesuturilor bontului începe tot în ziua a 5-a, dat fiind că la acest nivel are loc o intensificare a reacției radioautografice în periostul humerusului secționat, precum și în capătul distal al mușchilor amputați, în țesutul conjunctiv localizat de-a lungul secțiunii musculare, în osteocitele dediferențiate, eliberate din osul pe cale de degenerare, și în capetele nervoase amputate (fig. 54—57).

Blastemul începe să se formeze în ziua a 10-a, celulele blastemale dediferențiate prezentînd o concentrare radioautografică pronunțată. În această perioadă, epiteliul rămîne cel mai reactiv component al regeneratului. Încorporarea metioninei este însă progresivă în timpul regenerării, atingînd un nivel înalt în faza de formare și de creștere a blastemului și apoi un maxim în cursul prediferențierii sale (104), (248), în special în celulele precartilaginoase și musculare, care sînt puternic marcate. În faza de diferențiere, sinteza proteică începe să scadă.

Radioautogramele din cursul perioadei de creștere a blastemului arată că nervul periferic are o acțiune deosebită asupra sintezei proteinelor în celulele blastemale dediferențiate, sinteza proteinei blastemale fiind parțial dependentă de inervația membrului în regenerare. Într-adevăr, blastemul este mai puternic marcat în imediata vecinătate a capătului distal al nervului. Există astfel un gradient de sinteză proteică în blastem, gradient legat de prezența nervului (274), (647).

Scanned with OKEN Scanner

Fig. 54. — Radioautografie prin capătul distal al mușchiului la 5 zile după amputare (după Bodemer și Everett).

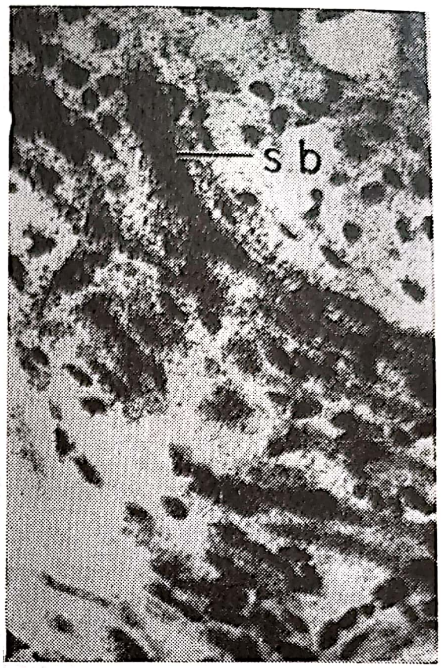


Fig. 55. — Muguri sarcoplasmici (*sb*) provenind din mușchii secționați ai brațului de triton după folosire de metionină S^{35} (după Bodemer și Everett).

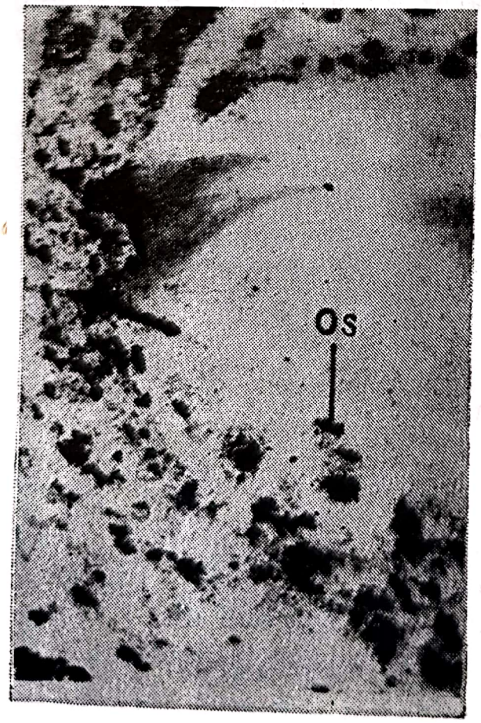


Fig. 56. — Secțiune prin humerus. Autoradiografie (după Bodemer și Everett).
Os, osteocite dediferențiate.

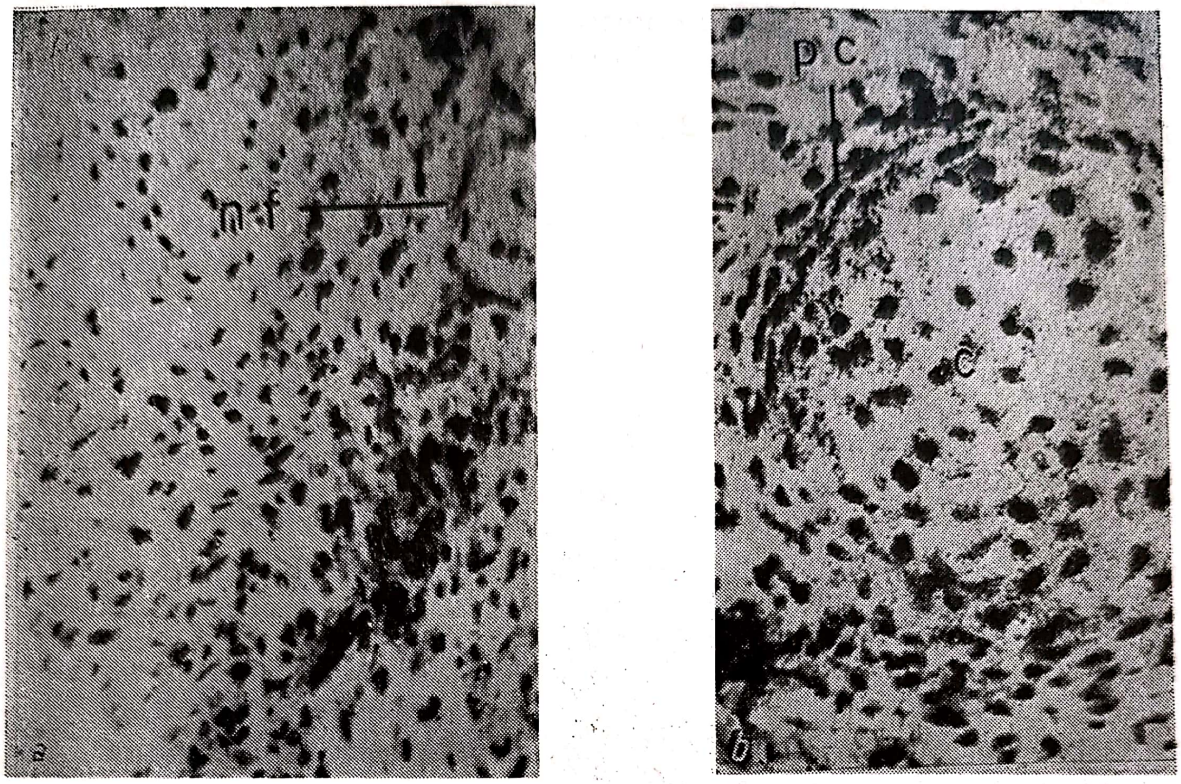


Fig. 57. — Regenerat de membru de triton după folosire de metionină marcată S^{35} (după Bodemer și Everett):
a, La 13 zile de la amputare: *nf*, fibră nervoasă. *b*, La 21 de zile de la amputare: *c*, cartilaj în diferențiere; *pc*, pericondru.

La *Bufo vulgaris* (182), (183), încorporarea metioninei C^{14} crește gradat pînă în zilele 6—7, pentru a reveni la normal odată cu diferențierea regeneratului.

Utilizarea tioaminoacizilor marcați cu S^{35} în regenerarea membrelor anterioare la *Triton vulgaris* și *T. alpestris* după metamorfoză (32) a permis să se stabilească, prin autoradiografie, că la 2 zile după amputare și la 3 ore după injectarea precursorului marcat capătul distal al mușchilor secționați prezintă o încorporare mai puternică decît partea lor proximală. La 7 zile de la amputare, în celulele lizate ale bontului încorporarea este slabă în periostul situat în apropierea suprafeței de amputare. În regiunea distală a mușchilor amputați, reacția este mai puternică decît în regiunea lor proximală (gradient proximo-distal). Osteoblastele din bontul regenerativ, precum și capetele nervilor amputați sînt puternic marcate. La mijlocul celei de-a 3-a săptămîni după amputare, în regenerat se constată că încorporarea în blastem este mai puternică în celulele mezodermale dediferențiate. Cu puțin timp înainte de rediferențiere, aceste celule indică cel mai înalt grad de încorporare. De asemenea, celulele periostale și condrocitele care migrează din bontul humeral indică o încorporare foarte înaltă, ceea ce conduce la concluzia că restituția țesuturilor bontului regenerativ provine din aceste celule specifice, și nu din blastem. În cursul rediferențierii, diferențierea cartilajului și a mușchilor regeneratului este legată de o scădere a încorporării.

Scanned with OKEN Scanner

În general, se constată că sinteza proteică este mult mai înaltă în toate fazele blastemului decît în țesuturile nedistruse ale bontului (fig. 58 și 59).

Folosindu-se prolina marcată în regenerarea membrelor larvelor și ale adulților de *Ambystoma* (482), (491), s-a constatat că fragmentele sarcoplasmice participă la edificarea blastemului, precum și faptul că, în momentul

Fig. 58. — Regenerat de membru anterior de triton la 3 ore după injectarea de tioaminoacizi marcați cu S^{35}. Autoradiografie de 17 zile (după Anton).

A, suprafața de amputare; *ec*, scufița apicală; *mbl*, blastem mezodermal de regenerare.

Fig. 59. — Mușchi striați din membrul anterior de triton la 7 zile după amputare și la 3 ore după injectarea de tioaminoacizi marcați cu S^{35}. Autoradiografie în care se evidențiază activarea sintezei proteinelor în mușchii dediferențiați (după Anton).

în care se ajunge la diferențiere, prolina este încorporată îndeosebi în colagen, ceea ce face ca proteinele bogate în prolină să fie secretate de fibroblaste, acumulîndu-se în fibrele situate la joncțiunea epidermului cu lamela bazală.

În studiul proceselor regenerative la *Triton vulgaris* și *T. alpestris*, leucina marcată a evidențiat (32) că, în primele 3 zile după amputare, por-

Scanned with OKEN Scanner

ţiunea distală a muşchilor degradaţi încorporează o cantitate dublă de substanţă marcată faţă de porţiunea proximală, nealterată. Încorporarea scade însă paralel cu formarea fibrelor musculare. În această perioadă, în celulele dediferenţiate, în cursul acumulării şi proliferării lor, se mai constată o încorporare sporită, care atinge maximul în prediferenţiere, după care scade. Încorporarea este foarte evidentă în bonturile nervilor amputaţi şi în celulele periostale.

Încorporarea glicinei C^{14} în cursul diferenţierii cozii de triton este semnificativ mai intensă în regenerat decît în ţesuturile bontului regenerativ (155).

Cu ajutorul substanţelor marcate au mai fost întreprinse şi alte cercetări, urmărindu-se încorporarea de precursori marcaţi (103), (846) sau de proteine marcate (706), administrate în stadiile relativ tîrzii ale regenerării. Rezultatele obţinute au fost similare cu cele precedente.

Cercetările biochimice efectuate asupra întregului organ în regenerare au confirmat, în general, datele menţionate. S-a stabilit astfel (837), (839), (1340) o creştere a numărului de aminoacizi, a cantităţii de azot aminic şi de glutation, creştere gradată care atinge maximul în stadiul de 3 degete, după care situaţia devine normală.

În regenerarea cozii mormolocilor de *Xenopus*, s-a constatat (262) că azotul total scade puternic în bontul cozii amputate între zilele 5 şi 8 după amputare şi apoi diminuează lent după ziua a 11-a. În regenerat însă, azotul total creşte puternic pînă în a 5-a zi, după care rămîne constant pînă în ziua a 15-a, moment în care începe să descrească cantitativ. Aceste observaţii ne îndreptăţesc să presupunem că în cursul regenerării are loc o trecere de material azotat din bontul cozii în regenerat. Aceleaşi cercetări au arătat, dealtfel, că substanţele ninhidrinopozitive cresc în regenerat paralel cu scăderea lor în bontul cozii amputate.

Tot la amfibii s-a mai stabilit importanţa grupărilor -SH în procesele morfogenetice ale regenerării. Astfel, mercaptoetanolul, care blochează grupările -SH, inhibă regenerarea. Scăderea cantităţii de substanţe cu grupări -SH, consecutivă adiţiei de β-mercaptoetanol, inhibă mişcările morfogene ale organelor în regenerare (118).

Pe de altă parte, s-a constatat că ţesutul de granulaţie al plăgilor cutanate la mamifere este capabil de a încorpora o cantitate mai importantă de metionină marcată cu S^{35} decît cea fixată de pielea şi de ţesuturile subcutane nealterate. Această cantitate, care variază în cursul diferitelor stadii ale regenerării, este foarte ridicată în primele zile şi diminuează apoi, pentru a creşte uşor la 15 zile după lezare (171).

S-a mai constatat, pe cale biochimică, creşterea excreţiei de azot în cursul perioadelor timpurii ale vindecării plăgilor la mamifere (223), precum şi faptul că în ţesutul regenerativ cantitatea de metionină, cisteină şi cistină augmentează în ultimele zile ale regenerării (1420), (1421).

În fine, în regenerarea plăgilor la iepuri, contracţia liniară a plăgii, care survine în zilele 10—12, este însoţită de pierderea absolută a greutăţii umede, a apei, a colagenului şi a azotului necolagenic din aria lezată (3), (4), (280), (551).

Din datele expuse reiese că formarea ţesuturilor regenerative ale organelor periferice este însoţită de o proteosinteză puternică, precedată însă de o impresionantă proteoliză. Nivelul cel mai înalt al proteosintezei pare

Scanned with OKEN Scanner

să fie atins în cursul formării blastemului sau a țesutului de granulație, precum și în faza de creștere a mugurelui regenerativ, sinteza diminuînd în cursul diferențierii. Creșterea sintezei proteinelor este legată de procesele proliferative și de edificarea materialelor necesare construirii structurilor celulare diferențiate. Dealtfel, și cercetările electronomicroscopice au arătat că celulele blastemale comune sînt sediul unei sinteze înalte de proteină la nivelul reticulului lor endoplasmatic (150).

Regenerarea organelor interne

Regenerarea ficatului

Cercetări efectuate asupra ficatului parțial hepatectomizat la șoarece și la șobolan au demonstrat existența unei puternice sinteze proteice în decursul regenerării organului. Această sinteză are loc, în special, în faza de proliferare, începînd să scadă treptat în faza de hipertrofie.

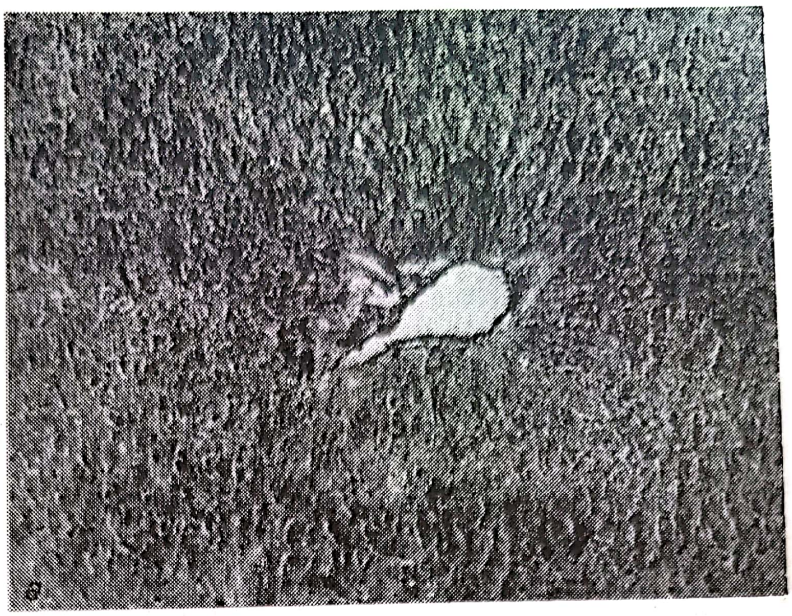
În ficatul regenerativ de șoarece, raportul ARN/proteine este mult mai ridicat decît la animalul normal, iar proteinele sînt puternic sintetizate în decursul regenerării. În focarul de regenerare au loc însă procese premergătoare de proteoliză legate de apariția mitozelor (21).

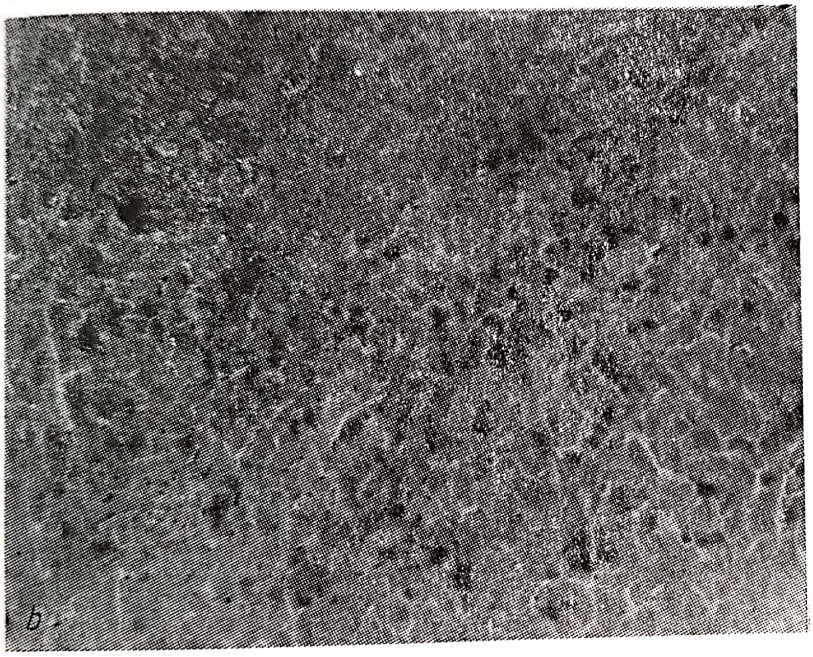
Unii autori (205) au stabilit că încorporarea aminoacizilor în proteine noi la șobolan are loc, la 16 ore după operație, în microsomii și mitocondriile hepatocitelor. Alți autori (1203) au observat, în cursul primei unde de mitoze a parenchimului hepatic (22—39 ore), o augmentare simțitoare a sintezei proteinelor nucleare. Sinteza proteinelor specifice citoplasmatice nu ar începe însă decît după 7—8 zile de la operație (629), (634). Cercetările efectuate cu atomi marcați au mai arătat că, în hepatectomia de 2/3 din ficatul șobolanilor, încorporarea maximă a metioninei C^{14} în proteine coincide cu perioada mitotică (474).

Cercetările noastre (947), (950), (951) au demonstrat că în extirpările a 25% din masa hepatică are loc o creștere, inegal celulară, a proteinelor cu aminoacizi -SH pînă la 14 zile după amputare, în timp ce în amputarea a 60% din masa hepatică creșterea sintezei proteinelor are loc pînă la 24 de zile. În amputarea a 25% din ficat se constată, între 14 și 35 de zile de la operație, faza de trecere de la stadiul hiperplazic dominant la stadiul hipertrofic dominant, o scădere a proteinelor cu aminoacizi -SH, dar și o creștere a proteinelor totale, uniform repartizate în celulele lobului hepatic, deci o sinteză continuă paralelă cu procesul regenerativ, procese care apar, atunci cînd se extirpă 60% din masa hepatică, între 24 și 35 de zile de la amputare (fig. 60).

Au fost studiate, prin încorporare de leucină și de timidină marcată, și variațiile conținutului de histone și de ADN din nucleii hepatocitelor ficatului regenerativ de șobolan și s-a constatat că atît cantitatea de histone, cît și încorporarea de leucină încep să augmenteze și ating maximul mai timpuriu decît augmentarea conținutului de ADN și încorporarea de timidină. (842). Folosirea glicinei marcate (33) a indicat că această substanță prezintă un maxim de încorporare la 20—40 de ore după hepatectomie, ceea ce corespunde cu perioada în care se notează capacitatea maximă de sin-

Scanned with OKEN Scanner





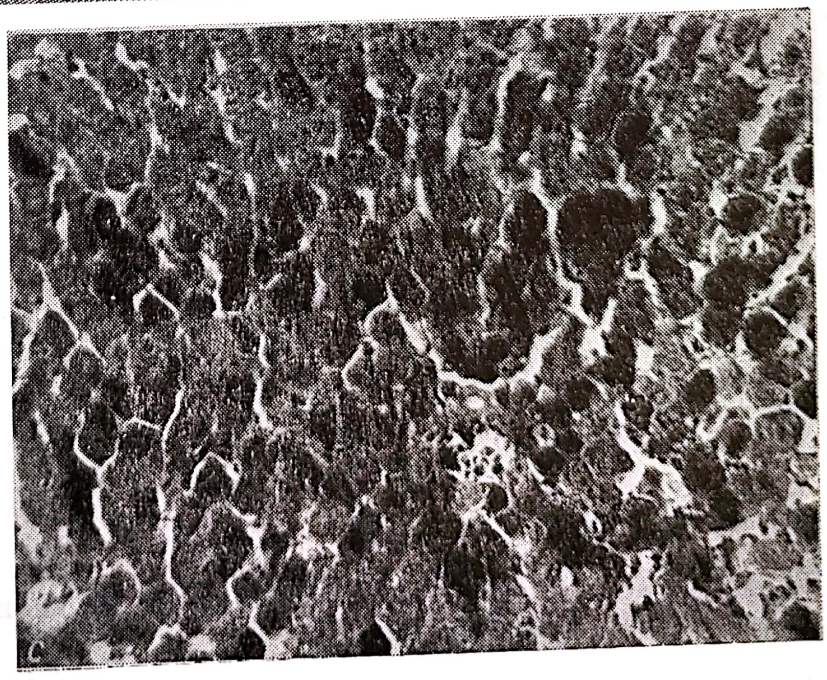


Fig. 60. — Situația grupărilor -SH: *a*, în ficatul de șobolan normal; *b*, în ficatul regenerativ la 14 zile după amputarea a 25% din masa hepatică; *c*, în ficatul regenerativ la 35 de zile după amputarea a 60% din masa hepatică.

Scanned with OKEN Scanner

teză a proteinelor. În realitate, încorporarea glicinei marcate în proteine are două maxime, unul care precedă mitoza și al doilea după mitoză, maxime ce coincid cu creșterea bruscă a activității dipeptidazice (41), (474), (756).

Observații privind regenerarea ficatului *in vitro* au arătat că încorporarea aminoacizilor marcați în ficatul normal nu diferă față de cel regenerativ cu mai mult de 10%, atunci cînd rezultatele sînt exprimate în termeni cantitativ echivalenți de ARN microsomial. Există totuși o diferență, în sensul că ficatul regenerat încorporează aminoacizii pentru o durată de timp mai îndelungată (707). Potrivit cercetărilor lui TEDESCHI și colab. (1238), prin inocularea de proteine radioactive din organe de șobolani tratați cu glicină-1,2-C^{14} la alți șobolani se evidențiază că proteinele organelor inoculate au o distribuție de radioactivitate caracteristică, care diferă de cea obținută prin inocularea unui singur aminoacid marcat vehiculat de proteine inerte. Pornind de la aceste cercetări, PETRELLI și TEDESCHI (867) au inoculat șobolani normali sau hepatectomizați cu proteine C^{14} (obținute din ficat) sau cu glicină-1,2-C^{14} și au stabilit că ficatul regenerat încorporează în proteine mai multă radioactivitate decît ficatul normal. Încorporarea de glicină este însă mult mai scăzută decît cea de proteine. Încorporarea proteinelor C^{14} se face mai mult în zona regenerativă decît în restul organului, pe cînd cea de glicină are loc invers.

În ficatul regenerativ la iepure, după extirparea a 2/3 din organ, este pusă în evidență o nucleoproteină cu o compoziție deosebită prin bazele ei azotate, proteină care stimulează regenerarea ficatului mormolocilor de broască (657). Dealtfel, alte cercetări (380) consideră că nivelul proteinelor plasmatice sintetizate în ficat determină rata diviziunii celulare din ficatul în regenerare. Procesul de proliferare s-ar efectua astfel printr-un *feed-back* determinat de produsele tisular-specifice.

Cercetările făcute asupra ficatului regenerativ într-un stadiu foarte tardiv (1 an) de la amputarea a 75% din masa hepatică au stabilit persistența unei sinteze proteice intense (953).

Regenerarea mușchilor

Anumite experiențe (818) au demonstrat diminuarea grupărilor -SH în regenerarea mușchilor scheletici, probabil ca urmare a dezvoltării excesive a fibrelor colagene.

În miocardul traumatizat la șobolan au loc, în stadiul de distrugere și de dediferențiere, o puternică proteoliză și histoliză. În stadiul de creștere și de diferențiere se constată însă o puternică sinteză de proteine și o respirație de tip aerob. S-a urmărit sinteza proteică prin folosirea tirozinei C^{14} și a cistinei S^{35}, constatîndu-se că în primele 20 de zile are loc o intensificare a aminoacizilor marcați din substanțele proteice ale regiunii în regenerare, această intensificare depășind cu 30% încorporarea din mușchiul cardiac nelezat. În ziua a 30-a, încorporarea este mult mai redusă decît în mușchiul cardiac normal (528).

Regenerarea splinei

S-a constatat că în regenerarea splinei formarea de anticorpi, deci de proteine, scade foarte mult (678).

Scanned with OKEN Scanner

Regenerarea cortico-suprarenală

În regenerarea cortico-suprarenalei la șobolanii albinoși, proteinele cu aminoacizi sulfhidrilici augmentează foarte mult între 3 și 7 zile după lezarea cortexului (1288).

Regenerarea nervilor

Anumite cercetări (40) au stabilit că, în decursul regenerării nervului sciatic la șobolan, proteinele totale nu arată modificări în bontul proximal al nervului secționat. În schimb, în bontul distal, proteinele totale scad mai ales în ziua a 4-a și a 11-a.

Regenerarea cristalinului

Regenerarea cristalinului, din iris, la triton este însoțită de o augmentare accelerată a sintezei proteinelor (1059), (1437).

Prin imunofluorescență s-a mai constatat că, în primele stadii ale regenerării cristalinului la *Triton viridescens*, irisul și regeneratul nu prezintă fluorescență (lipsă de sinteză de antigene). În stadiile mijlocii ale regenerării, în fibrele cristaliniene primare apar însă antigene. În stadiul final, celulele și fibrele cristaliniene produc antigene (1234) (fig. 61).

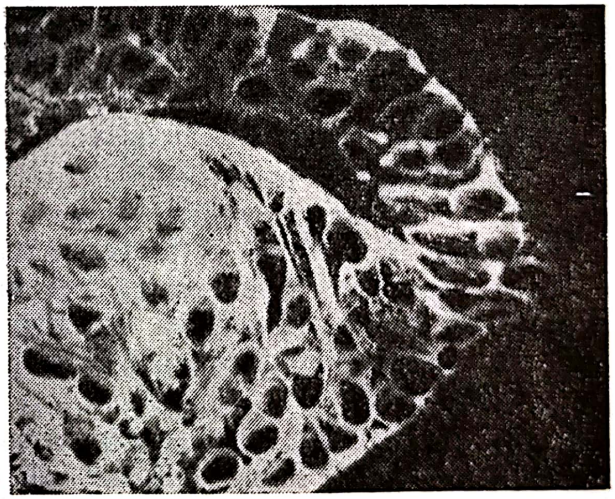


Fig. 61. — Stadiul IX de regenerare al cristalinului la tritonul adult. Microfotografie fluorescentă.
În *stînga sus*, se observă celule epiteliale cristaliniene negative, la *mijloc sus* celule epiteliale cristaliniene pozitive, în *dreapta sus* celule pozitive ale zonei intermediare, iar în *jumătatea inferioară* celule fibroase cristaliniene cu citoplasmă pozitivă (după Takata și colab.).

La *Triton taeniatus*, cu ajutorul metodelor imunologice (anafilactice), s-a constatat că antigenele cristaliniene sînt absente în ziua a 5-a și prezente în ziua a 15-a a regenerării (1272). Folosindu-se metoda capilară la același animal, s-a observat că antigenele cristaliniene sînt absente în ziua a 5-a; reacția este însă prezentă în ziua a 11-a, atunci cînd se formează fibrele, și augmentează între zilele 15 și 30 (1350). Aceste cercetări au arătat de asemenea că nu există antigene cristaliniene în iris, cu toate că la acest nivel are loc o sinteză de proteine, de ADN și de ARN (1234), (1350).

Prin metoda fluorescenței s-a stabilit la *Triton pyrrhogaster* absența antigenelor cristaliniene în ziua a 5-a, primul semn pozitiv apărînd doar în ziua a 10-a, iar pozitivarea totală după 15—30 de zile (832).

Scanned with OKEN Scanner

Din aceste date rezultă că există două perioade de sinteză proteică în cursul regenerării cristalinului, și anume: a) perioada timpurie, cînd augmentează proteinele, dar nu se formează antigene; b) perioada mai tardivă, cînd se sintetizează antigenele (1234), (1437).

Modificările mediatorilor chimici în cursul regenerării

Anumite observații ne îndreptățesc să afirmăm că în cursul regenerării au loc și modificări ale mediatorilor chimici. Astfel, ROMANOVA a stabilit că există o reglare umorală în stadiile inițiale ale regenerării ficatului. Diferite alte cercetări (21), (151), (346), (369), (380), (381), (500), (520), (542), (602), (708), (855), (978), (979), (1003), (1196), (1409) au pus în evidență un factor seric provenit din ficatul rezecat, factor de natură lipoproteică sau lipidică, cu rol în stimularea mitozelor ficatului în regenerare.

Unii autori au depistat rolul factorilor hormonali în procesul regenerativ. S-a constatat astfel că ablația glandei tiroide la batracieni și la mamifere are o acțiune defavorabilă asupra mersului regenerării (acțiune nespecifică — WALTER, 1911, citat după (1)). Hipertiroidizarea încetinește regenerarea cozii larvelor de amfibii (ROMEIS, 1913, PAWLOVSKY, 1923, citați după (1)). Ablația hipofizei la urodele slăbește procesele regenerative ale adultului și nu exercită nici o acțiune asupra regenerării la larve (SCHOTTÉ, 1926, citat după (1)). Administrarea hormonilor hipofizari permite la animalele hipofizectomizate, la care regenerarea este stopată, o regenerare completă și normală (1418). Alte ipoteze susțin că necrohormonii proveniți în urma lezării ar stimula proliferarea elementelor intacte.

În regenerarea membrelor la triton s-a mai constatat că acetilcolina crește puternic în fazele timpurii și diminuează înainte de începutul diferențierii. Fenomenul este legat de acțiunea trofică a nervilor asupra procesului regenerativ (1135), nervi care exercită cea mai mare influență în cursul creșterii regeneratului. În regenerarea inciziilor cutanate la șobolani, cantitatea de histamină crește semnificativ în primele zile ale formării țesutului de granulație (571), (572).

S-a mai stabilit că, în regenerarea cozii la mormolocii de amfibii, vitamina B_1 (aneurina) scade pînă la 8 zile după amputare, pentru a reveni apoi la nivelul ei normal (116).

Modificările enzimelor în cursul regenerării

Oxidoreductazele

Aceste enzime au rolul de a produce, prin oxidare celulară, energia necesară morfogenezei. Ele augmentează mai ales în țesuturile subepiteliale în cursul maturării acestora. Dintre aceste enzime, cele mai active sînt lacticdehidrogenaza (LDH), citocromoxidaza (CO), succindehidrogenaza (SDH) și difosfopiridin-nucleotid-diaforaza (DPND).

Scanned with OKEN Scanner

Astfel, în regenerarea epiteliului membrelor la triton, enzimele oxidative augmentează, unele mai intens, altele mai slab (819), (820), (1429). La 24 de ore de la amputare se constată o creştere evidentă a DPND şi CO şi o creştere mai slabă a SDH şi trifosfopiridin-nucleotid-diaforazei (TPND). Aceste enzime suferă o creştere gradată în epiteliu, prezentînd o activitate maximă la sfîrşitul primei săptămîni şi la începutul celei de-a 2-a după amputare (ziua a 10-a), după care activitatea descreşte în epiteliu în a doua jumătate a celei de-a 2-a săptămîni şi în săptămîna a 3-a. DPND şi CO sînt mai active decît SDH şi TPND, iar DPND este mai activă decît TPND (819), (820). În schimb, glucozo-6-fosfatdehidrogenaza (Gl-6-P-DH) suferă o foarte mică creştere de activitate în epiteliul regenerativ al membrului de triton: nu se constată diferenţe semnificative între situaţia enzimei din epidermul capului apical regenerativ şi din epiteliul normal (1429) (fig. 62—64).

În general, se constată diferenţe considerabile între epiteliul scufiţei apicale regenerative şi epiteliul marginal vechi.

În regenerarea pielii la şoarece are loc o creştere evidentă a SDH în foliculii piloşi şi în epiteliul regenerativ între zilele 4 şi 7 de la lezare, perioadă urmată de o scădere evidentă a enzimei în epidermul regenerativ între a 10-a şi a 14-a zi (37).

În epidermul iradiat al şoarecilor, în cursul vindecării se constată o creştere a enzimelor din sistemul peroxid-peroxidazic, precum şi a DPND în zonele periferice de regenerare ale epidermului (463).

În blastemul de regenerare, celulele blastemale se dovedesc a fi o populaţie heterogenă în ceea ce priveşte activitatea enzimelor oxidative, probabil conform originii lor (1429). Astfel, în regenerarea membrelor la triton, în cursul dediferenţierii, are loc o scădere a activităţii enzimelor oxidative în ţesuturile subepiteliale. Totuşi, resturile musculare, periostul şi osteocitele dediferenţiate sînt moderat reactive (819), (820). Se constată însă o creştere izbitoare a Gl-6-P-DH, paralel cu reducerea relativă a enzimelor ciclului Krebs (1429). Astfel, în ziua a 6-a are loc o creştere foarte marcată a Gl-6-P-DH. Or, această enzimă catalizează treapta oxidativă iniţială în calea pentozofosforică. Creşterea Gl-6-P-DH, concomitent cu scăderea relativă a enzimelor ciclului Krebs, arată că metabolismul glucozei, care se efectuează pe această cale, are un rol însemnat în dediferenţierea celulelor, ribozofosfatul fiind determinant în construirea acizilor nucleici şi constituind un produs important al acestei căi. De aceea, se constată o paralelă între creşterea Gl-6-P-DH şi cea a sintezei de ADN, ARN şi proteine (103), (490), (1429).

În celulele blastemale imature se observă, la început, o augmentare progresivă a LDH, DPND şi CO, precum şi lipsa de creştere sau chiar scăderea SDH, a malicdehidrogenazei (MDH) (fig. 65), a izocitricdehidrogenazei (IDH) (fig. 66), a TPND (fig. 67) şi a Gl-6-P-DH (fig. 68) (819), (820), (1429), cu toate că unii autori atestă o creştere a TPND (819), (820). Se mai constată că activitatea DPND este mult superioară celei a TPND (819), (820). Aceste procese se menţin în decursul maturării şi al creşterii blastemului.

În procesul de diferenţiere, enzimele oxidative prezintă acelaşi înalt nivel, cu excepţia CO, TPND, DPND şi Gl-6-P-DH, diferenţierea restabilind situaţia enzimatică normală (1429).

Scanned with OKEN Scanner

Fig. 62. — Reacția DPND în regeneratul membrului de triton la 8 zile după amputare. Imaginea evidențiază o reacție în scufița apicală, în celulele blastemale și în mușchi (după Niwelinski).

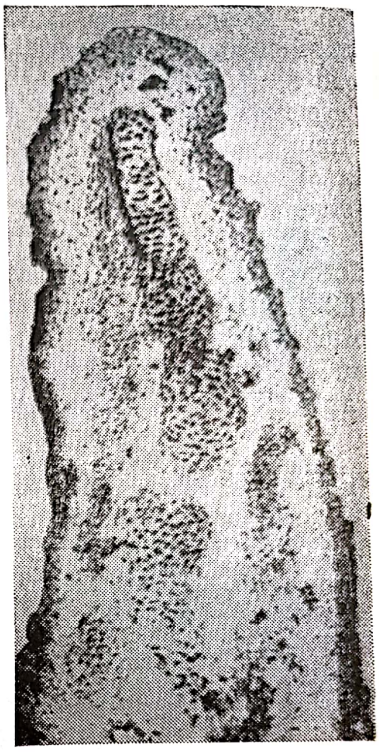


Fig. 63. — Reacția TPND în regeneratul membrului de triton la 17 zile după amputare (după Niwelinski).

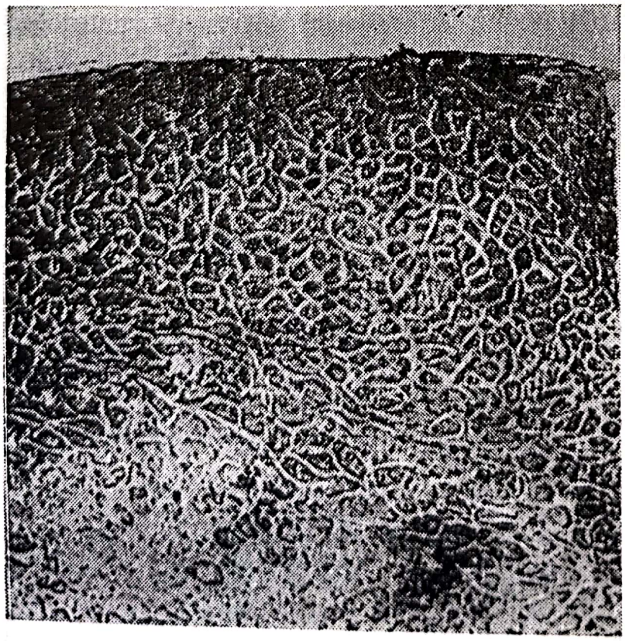


Fig. 64. — Reacția SDH în regeneratul membrului de triton la 10 zile după amputare. Scufița apicală (după Niwelinski).

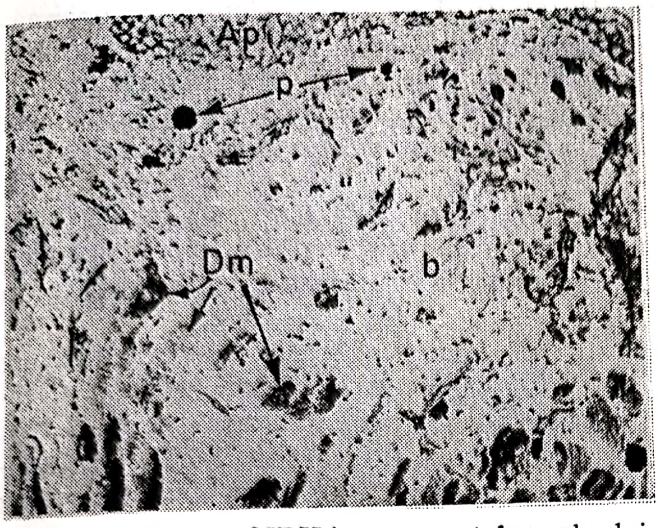


Fig. 65. — Reacția MDH în regeneratul membrului de triton în stadiul de mugure timpuriu (după Wolfe și Cohen).

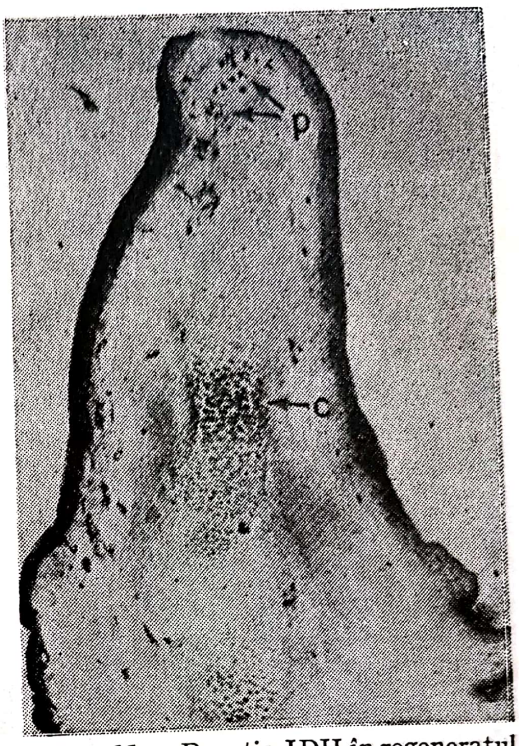


Fig. 66. — Reacția IDH în regeneratul membrului de triton în stadiul de paletă tardivă (după Wolfe și Cohen).

Fig. 67. — Reacția TPND în regeneratul membrului de triton în stadiul de mugure timpuriu (după Wolfe și Cohen).

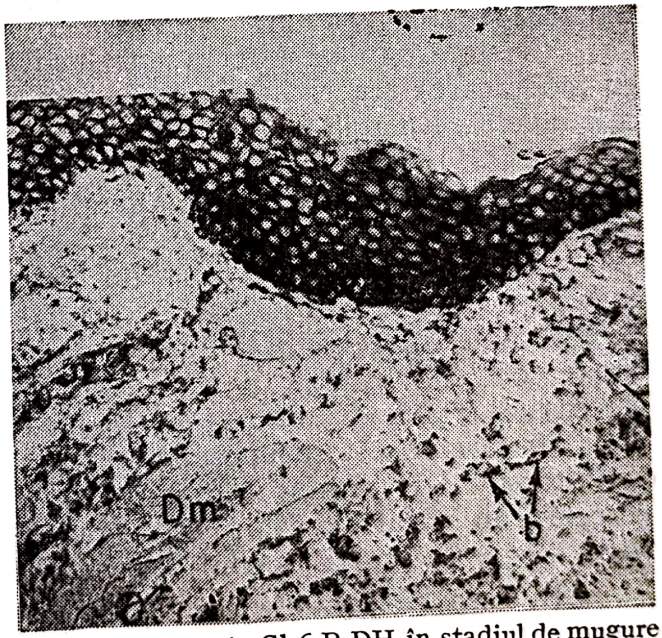


Fig. 68. — Reacția Gl-6-P-DH în stadiul de mugure timpuriu al regeneratului membrului de triton (după Wolfe și Cohen).

Ap, epiteliu apical; *p*, celule pigmentare; *Dm*, fibră musculară dediferențiatoare; *b*, blastem; *c*, cartilaj.

În ceea ce privește capătul amputat al mușchilor membrelor se constată că, între ziua a 6-a și săptămîna a 3-a, fibrele situate aproape de capătul amputat, în special cele vecine epiteliului apical din aria maximei dediferențieri, pierd caracteristicile lor structurale și iau aspectul afibrilar al celulelor

Scanned with OKEN Scanner

blastemale. Paralel cu aceasta apar alterări în distribuirea sistemelor enzimatice oxidative, cum sînt scăderea puternică a Gl-6-P-DH, TPND și SDH. În rediferențierea musculară (săptămînile 4—5), situația este inversă, manifestîndu-se mai ales o activitate puternică a SDH. Mai puțin pregnantă este creșterea Gl-6-P-DH, activitatea acesteia fiind evidentă doar în săptămîna a 6-a (1429).

În celulele perineurale din dreptul nervilor amputați, se constată, la 6 zile după amputarea membrelor, o augmentare a sistemului enzimelor oxidative, în special a Gl-6-P-DH la nivelul capătului amputat, situație care nu există la animalul normal (1429).

Pe de altă parte, activitatea Gl-6-P-DH crește în celulele periostale ale bontului regenerativ, mai ales în vecinătatea amputației, după a 6-a zi. Celelalte enzime oxidative sînt de asemenea augmentate, dar într-un grad mai redus. Nu se constată schimbări în celulele osoase pînă ce nu începe remodelarea osoasă, moment în care osteoblastele prezintă o puternică activitate enzimatică.

Dintre celulele în diferențiere, în săptămînile 3—5, în special în stadiul de paletă digitală, celulele precartilajului prezintă cea mai intensă activitate a enzimelor oxidative ale ciclului Krebs, cu excepția SDH, reacția la acest nivel fiind mai puternică decît în celulele blastemului. IDH are o distribuție inegală, dar este importantă localizarea sa în porțiunea centrală a primordiului cartilajului osteogen (cea mai tînără regiune de osificare), ceea ce indică legătura ei cu formarea endocondrală a oaselor. Se observă de asemenea o distribuire inegală a Gl-6-P-DH și a TPND, celelalte enzime fiind distribuite uniform (1429).

Creșterea și descreșterea activității enzimelor oxidative epiteliale coincid cu modificarea reactivității cartilajului și a mușchiului, unde ele urmează o cale inversă. Energia furnizată de aceste enzime este deci necesară diferențierii celulare (819), (820). Așadar, în regenerarea membrelor de triton se constată, în general, o creștere izbitoare a Gl-6-P-DH și o reducere relativă a enzimelor ciclului Krebs.

În regenerarea cozii la triton are loc o augmentare a SDH și a LDH. Studii biochimice cantitative efectuate pe homogenate din regeneratul cozii de triton au arătat că SDH, diminuată la începutul procesului de regenerare, crește considerabil în a 10-a zi de la amputare. Aceste studii au evidențiat că cea mai activă enzimă este LDH, iar cea mai puțin activă este MDH (361).

În formarea țesutului de granulație din regenerarea pielii la șoarece, activitatea SDH rămîne intensă pînă în ziua a 14-a de la lezare (37). Alte cercetări au stabilit că, în plăgile efectuate la mamifere, cantitatea de peroxidaze crește la scurtă vreme după traumatism (224).

În ceea ce privește regenerarea organelor interne s-a constatat că în regenerarea mușchilor scheletici are loc o intensificare a reacției pentru SDH în mioblaste și în miotubi (61).

În primele zile ale regenerării ficatului de șobolan se produce o inhibiție netă a respirației și a activității enzimelor ciclului Krebs, paralel cu perioada de proliferare mitotică (348). Unele cercetări (791), (792) au stabilit că, în regenerarea ficatului, Gl-6-P-DH augmentează, comparativ cu martorul, la 24 de ore după hepatectomia subtotală, continuă să crească progresiv pînă la 5 zile, pentru ca apoi să arate, în ziua a 14-a, o tendință de diminuare. Studiindu-se comportamentul IDH, al triozofosfatdehidrogenazei și al LDH în citoplasma

Scanned with OKEN Scanner

și în nucleii celulelor regeneratului hepatic de șobolan, s-a ajuns la concluzia (1112) că aceste enzime prezintă o creștere importantă a activității lor în nuclei și o scădere remarcabilă în citoplasmă. În regenerarea ficatului de șobolan mai are loc creșterea SDH și a coenzimei A (698), (951).

Prin studiul întreprins la 1 an de la hepatectomia parțială a ficatului de șobolan s-a stabilit o diminuare slabă a SDH, a MDH și a $NADH_2$-diaforazei, o scădere puternică a glutamatdehidrogenazei, a β-hidroxibutiratdehidrogenazei și a Gl-6-P-DH, precum și faptul că IDH și LDH nu se modifică (955) (fig. 69).

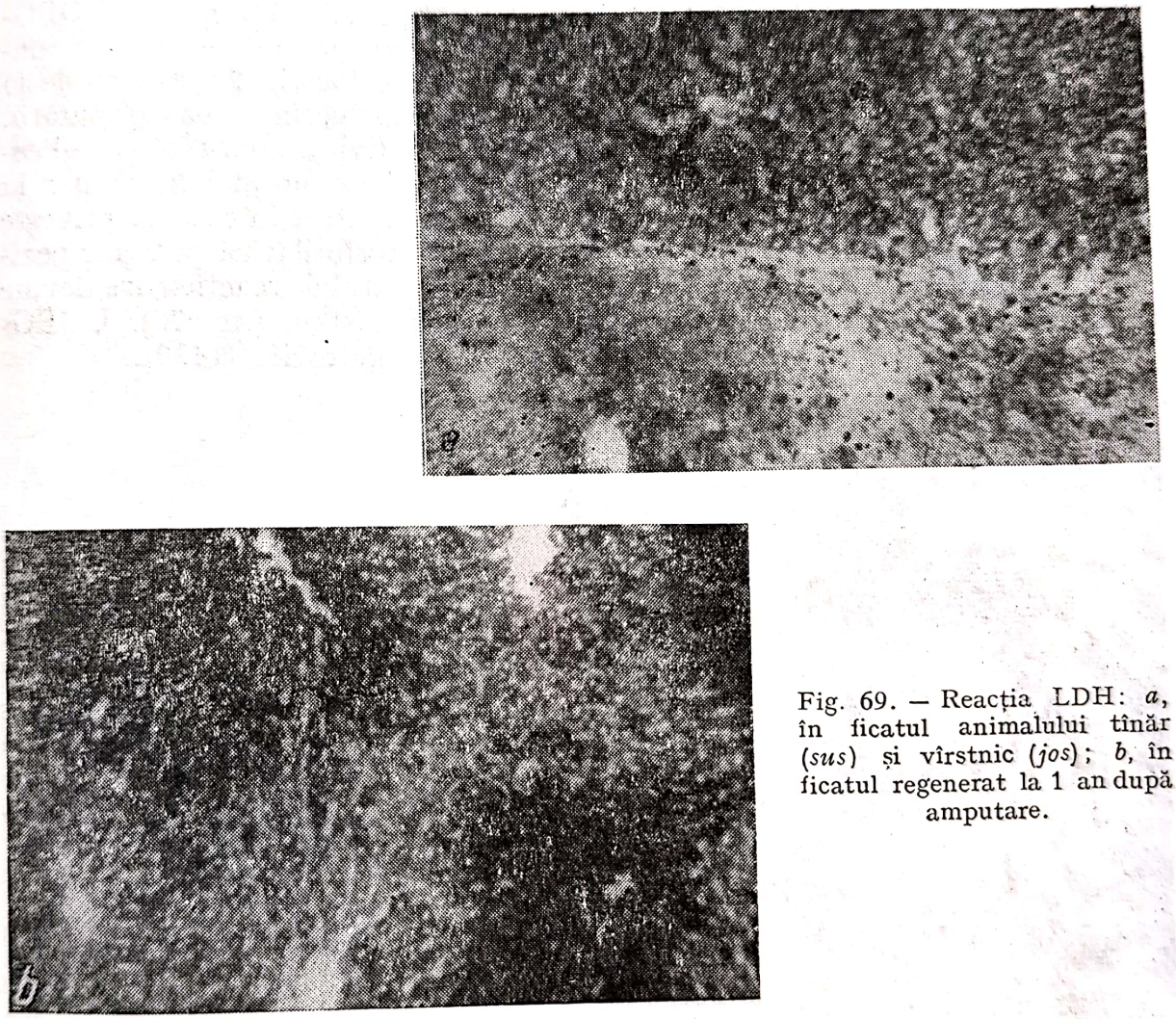


Fig. 69. — Reacția LDH: *a*, în ficatul animalului tînăr (*sus*) și vîrstnic (*jos*); *b*, în ficatul regenerat la 1 an după amputare.

În regenerarea suprarenalei la mamifere, concentrația/celulă a CO se mărește, la 15 zile de la suprarenalectomia parțială, pînă la de 3 ori, pentru ca să se mențină ridicată pînă la 3 luni, după care începe să scadă (862).

Transferazele

În regenerarea membrelor anterioare la triton, glucozanfosforilaza este, la 24 de ore de la amputare, moderată în epiteliu și intensă în capătul proximal, cu o scădere spre capătul distal al mușchilor amputați. În perioada de dediferențiere, reacția dispare din epiteliu, precum și la capătul distal al mușchilor

Scanned with OKEN Scanner

amputați. În celulele blastemale nu se constată o activitate enzimatică pînă la sfîrșitul săptămînii a 3-a, cînd aceasta apare moderată în mușchiul regenerat. Celulele cartilaginoase (condroblastele proximale) din stadiul de paletă digitală (săptămîna a 4-a) reacționează moderat. Enzima ar juca un rol important în mișcarea activă a celulelor epiteliale în cursul migrării lor în timpul epitelializării plăgii și folosește la transferarea energiei libere provenite din oxidări, precum și la conservarea acesteia în legături macroergice (819), (1429).

În regenerarea membrelor la triton, enzimele glicogenice (UDPG-transglucozilaza și fosforilaza) au comportamente diferite în epiteliu și în blastem. Astfel, în epiteliul regenerativ se constată o slabă activitate fosforilazică, identică cu cea observată la animalul normal, precum și o absență a UDPG-transglucozilazei, pe cînd în celulele blastemale enzimele glicogenice sînt constant negative. În fibrele musculare amputate are loc, la 24 de ore de la amputare, o diminuare puternică a enzimelor în vecinătatea amputării. În fibrele musculare rediferențiate există o slabă activitate, cu toate că glicogenul este abundent. Enzimele nu revin la nivelul lor normal nici chiar la sfîrșitul săptămînii a 5-a. Celulele perineurale sînt negative în ceea ce privește enzimele glicogenice. În fine, se constată o reacție fosforilazică puternic pozitivă în condrocitele, mai ales proximale, ale regeneratului, reacție care devine progresiv tot mai slabă în celulele cartilaginoase distale (fig. 70). UDPG-transglucozilaza are însă o activitate crescută în condrocite (1429).

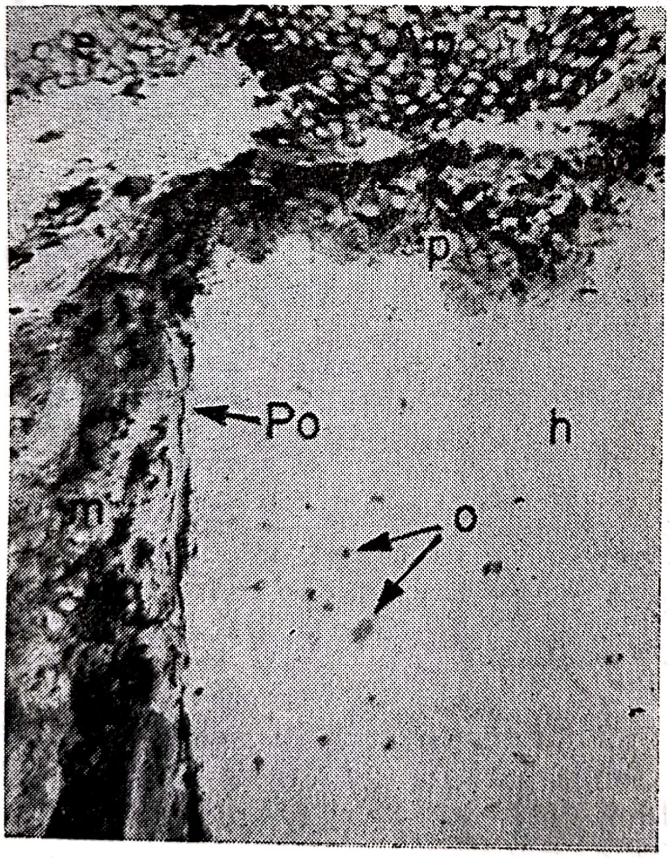


Fig. 70. — Reacția fosforilazei în regenerarea membrului de triton în stadiul digital (după Wolfe și Cohen).

Ap, epiteliu apical; *e*, epiderm; *p*, celule pigmentare; *h*, humerus; *o*, osteocite; *Po*, periost; *m*, mușchi.

În ficatul pe cale de regenerare se observă o creștere marcată a triptofanpirolazei la 6 ore după hepatectomia parțială la șobolan. Enzima scade apoi, atingînd nivelul normal la 24 de ore de la hepatectomie (190).

Activitatea timidin- și timidilatkinazei în regenerarea ficatului de șobolan începe să crească la 18 ore de la hepatectomia parțială, atingînd un nivel maxim la 30 de ore (698), (836).

Studiul hidrolazelor s-a concentrat, în primul rînd, asupra **esterazelor.** S-a constatat astfel că, în regenerarea pielii la șoarece, *esteraza nespecifică,* ce se găsește în mod normal în epiderm, în foliculii piloși și în glandele sebacee, fiind mai redusă în țesutul conjunctiv adipos și absentă în derm, scade în epiderm și în foliculii piloși concomitent cu epitelializarea plăgii, adică între 4 și 7 zile după lezare. Între zilele 10 și 14 de la lezare, activitatea enzimatică începe să crească din nou. În țesutul de granulație, activitatea enzimei rămîne intensă pînă la 14 zile de la lezare (37). În regenerarea țesutului conjunctiv subcutanat la cobai, activitatea enzimei localizate la nivelul fibroblastelor crește considerabil în momentul individualizării fibroblastelor tinere în forme mature, scăzînd apoi puternic în diferențiere (1156). În regenerarea pielii umane după arsuri, proliferarea epidermului este legată de schimbări degenerative grăsoase și vacuolare în țesutul de granulație, schimbări precedate de o creștere a esterazelor nespecifice (89).

Se pare că esterazele intervin, la nivelul regenerării pielii, în elaborarea substanței interstițiale și în procesele de keratinizare (1156).

În regenerarea corticalei suprarenale la șobolan, esterazele — negative în corticala suprarenală normală — cresc în peretele sinusurilor și în parenchimul cortical al regeneratului (1337).

În regenerarea pielii la cobai, *lipazele* cresc remarcabil în țesutul de granulație sub forma augmentării conținutului în lipaze al fibroblastelor și histiocitelor în momentul ce corespunde cu debutul formării fibrei colagene (1156). S-a mai constatat scăderea lipazei în decursul regenerării după hepatectomia parțială la șobolan (951).

Colinesteraza, scăzută în cursul regenerării, crește înainte de histogeneză și augmentează puternic atunci cînd mușchii și nervii regeneratului devin funcționali (1135). Astfel, în regenerarea membrelor la triton, colinesteraza se găsește în cantitate foarte mică în fazele timpurii. Apoi augmentează, pentru a se apropia de nivelul normal, atingînd un maxim în stadiul care precedă imediat diferențierea musculară. În decursul acestei diferențieri, colinesteraza se oprește în creștere, după care scade cantitativ. Variațiile colinesterazei sînt corelate cu cele ale acetilcolinesterazei, care este în cantitate abundentă în primele faze ale regenerării, pentru a descrește la un nivel normal îndată ce colinesteraza începe să crească (1150).

Acetilcolinesteraza (ACE) joacă un rol important în transmisia neuromusculară și în regenerarea musculară. Studiul variațiilor ACE aduce informații prețioase asupra regenerării, repartiția și cantitatea enzimei fiind dependente de stadiile acesteia. Astfel, o reacție enzimatică difuză este depistată în panglicile sarcoblastice la 5—6 zile după ischemie sau după secționarea transversală a mușchiului. Reacția crește apoi progresiv în intensitate, rămînînd tot difuză. Pe măsură ce sarcoblastul se maturizează, reacția se concentrează în cîteva mici focare răspîndite de-a lungul noii fibre musculare (988). În partea proximală a mugurelui sarcoblastic, acolo unde sînt situați nucleii, reacția enzimatică este mai marcată decît în rest. Enzima atinge un maxim în stadiul care precedă diferențierea musculară. În legătură cu originea acestei enzime în fibrele musculare pe cale de regenerare, se presupune că acetilcolinesteraza difuzează din aparatul subneural (61).

Scanned with OKEN Scanner

Un grup important de esteraze, studiat foarte amănunțit în procesul regenerării, este cel al **fosfoesterazelor**, în special al fosfatazei alcaline și al fosfatazei acide.

Fosfataza alcalină (FA). La pești (barbun), FA este absentă în regenerat între 2 ore pînă la 3 zile după amputare, în mustața normală găsindu-se în cantitate mare în axul cartilaginos, în cantitate mică în corpusculii gustativi și în nervi și lipsind în restul țesuturilor. La 4 zile de la amputare, FA reapare în țesuturile mustății, păstrînd aceeași distribuție și aceeași intensitate ca și în mustața normală (939). În regenerarea înotătoarei caudale la *Gambusia*, la 48 de ore de la amputare, țesutul subepitelial în proliferare, format din celule nediferențiate, este bogat în FA. Diferențierea fibroblastelor este însoțită de scăderea FA (1104).

Evoluția distribuției FA în decursul regenerării organelor externe la vertebratele superioare peștilor este destul de complicată. Astfel, dacă enzima este prezentă în epiteliul organelor externe normale ale amfibiilor, ea dispare, în general, din epiteliul regenerativ în cursul primelor faze ale regenerării, reapărînd doar mai tîrziu. La unele amfibii însă (triton), enzima se păstrează nemodificată în epiteliul regenerativ. La reptile, enzima este slab reprezentată la nivelul epiteliului normal, dar se acumulează în primele stadii ale regenerării, pentru a se reduce apoi către sfîrșitul acestui proces. La vertebratele superioare (mamifere), lipsește complet din epiteliul normal și nu apare deloc în decursul regenerării, probabil datorită faptului că keratinizarea structurilor chimice ale proteinelor diferă de cea care are loc în fibrele țesutului de granulație.

În țesuturile regenerative subepiteliale (blastem sau țesut de granulație), enzima augmentează puternic la toate vertebratele în cursul stadiului de dediferențiere și de formare a blastemului, fiind foarte evidentă în fibroblaste, histiocite, leucocite, eritrocite, în unele celule ale glandelor subcutanate, în endoteliul capilar, în fibrele conjunctive, în tunica internă și adventicea vaselor, în miofibrilele mușchilor lezați. Imediat după producerea rănii, enzima este prezentă numai în histiocite, neexistînd altă reacție subapicală pînă în stadiul de acumulare al celulelor dediferențiate, cînd reacția fosfatazică crește în aceste ultime celule, spre deosebire de enzimele oxidative, care nu reacționează în acest stadiu. Celulele nediferențiate care se acumulează sub scufița apicală au o reacție citoplasmatică FA în proximitatea membranei lor celulare. În orice caz, aceste celule dediferențiate sînt mai puternic fosfatazate decît fibrocitele bontului regenerativ.

Reacția fosfatazică augmentează apoi considerabil în cursul maturării blastemului sau a țesutului de granulație, în special în celulele blastemale, în fibrilele intercelulare, în celulele Schwann ale nervilor secționați, în condroblastele hipertrofiate, în osteoblastele centrelor osteogene și ale regiunii fibrocelulare care înconjură scheletul pe cale de formare, reacția fosfatazică fiind localizată în cadrul țesutului de granulație mai ales în stratul productiv superficial. Se poate spune, în concluzie, că activitatea fosfatazică este caracteristică pentru dezvoltarea celulelor blastemale, a fibrilelor intercelulare, a condroblastelor hipertrofiate și a osteoblastelor.

Scanned with OKEN Scanner

Enzima scade considerabil în cursul diferențierii blastemului. În primordiile cartilajelor și ale mușchilor apar mai întîi centre de diferențiere, marcate prin scăderea activității fosfatazice.

Astfel, în regenerarea cozii la axolotl se constată o creștere foarte mare a FA în decursul formării blastemului, pentru ca apoi cantitatea de enzimă să scadă în faza de diferențiere (524), (525).

În regenerarea membrelor anterioare ale larvelor de *Ambystoma* (74), (579), (582) (fig. 71), se observă că, în epiteliul regenerativ, FA este negativă în primele 6 zile de la formarea plăgii și nu apare decît după acumularea celulelor subepiteliale puternic fosfatazate. După aceea, în unele cazuri se dezvoltă un gradient fosfatazic, care merge de la marginea regeneratului către baza noului epiteliu (8—9 zile de la lezare). Fază aceasta este urmată de scăderea și de dispariția FA la nivelul epiteliului (12 zile de la lezare). În alte cazuri însă, FA este negativă în epiteliul regenerativ de 6—9 zile.

În regiunea subepitelială, în primele 3 zile de la amputare există o perioadă de latență, urmată, odată cu acumularea celulelor dediferențiate în ziua a 3-a de la amputare, de o augmentare a cantității de FA în aceste celule (fibroblaste, celule musculare și cartilaginoase dediferențiate). Enzima crește pe măsură ce blastemul condensat se separă de mezenchimul subiacent. În decursul perioadei de dediferențiere, schimbările enzimatice se desfășoară pornind de la locul injuriei spre baza bontului amputat. În faza de creștere, blastemul începînd să se alungească la 4—5 zile, activitatea fosfatazică este abundentă în celulele blastemului, atingînd maximul la 8 zile; în perioada care precedă diferențierea, fosfataza este mai abundentă în condrocitele hipertrofiate. Se constată însă că augmentarea FA nu este asociată cu activitatea mitotică, dovadă că această augmentare este prezentă și în stadiul de dediferențiere celulară. Odată cu diferențierea (13 zile), în centrele de diferențiere din oase și din mușchi se produce o scădere sensibilă a activității enzimatice, centrele nefiind active din acest punct de vedere. Ulterior, scăderea este vizibilă și în oasele și mușchii neoformați. Schimbările concentrației enzimatice se desfășoară de la baza blastemului către vîrful regeneratului.

În regenerarea membrelor anterioare la tritonul adult (1070), FA apare în cursul dediferențierii, augmentează în timpul maturării blastemului și dispare în diferențiere. S-a stabilit existența unei reacții fosfatazice în citoplasma celulelor epiteliale, în histiocite, leucocite, eritrocite și în unele celule ale glandelor subcutanate, în miofibrilele mușchilor lezați, în tunica internă și adventicea vaselor, în endoteliul capilarelor și fibrele țesutului conjunctiv la nivelul bontului regenerativ din prima zi după amputare și pînă la sfîrșitul regenerării. În regenerat, reacția este puternică în celulele blastemale, în fibrilele intercelulare, în celulele Schwann ale nervilor, în condrocitele hipertrofiate, în osteoblastele centrelor osteogene și în celulele cartilajului articular al regeneratului. Celulele cartilaginoase demonstrează o mai precoce și mai intensă activitate fosfatazică decît cele musculare.

În regenerat, la 24 de ore de la amputare se constată modificări față de normal. După 3 zile apare o reacție în miofibrilele fragmentelor degenerate ale mușchilor, în celelalte țesuturi reacția rămînînd constantă. Între 6 și 11 zile se observă prezența FA în citoplasma celulelor blastemale și în miofibrilele mușchiului degenerat, restul țesuturilor avînd o reacție constantă. La 15 zile,

Scanned with OKEN Scanner

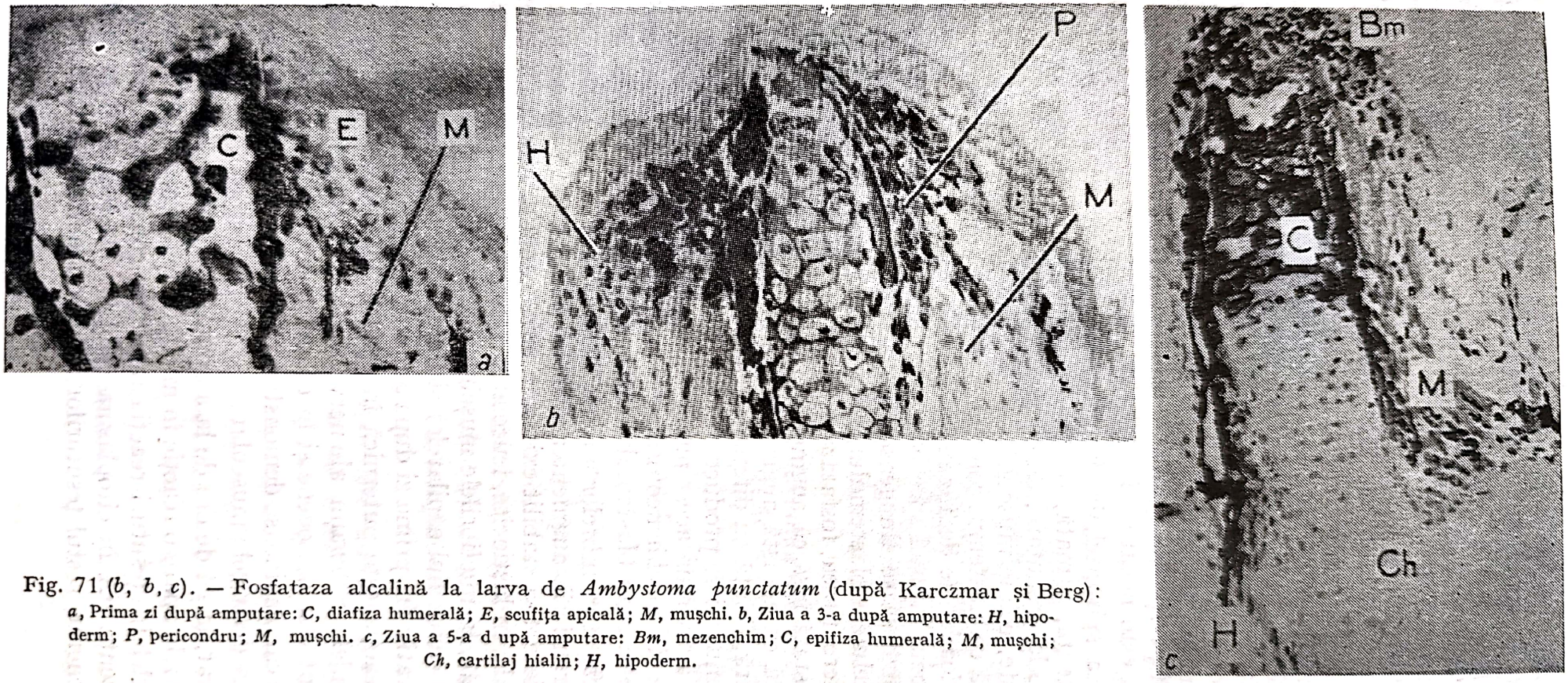


Fig. 71 (*b*, *b*, *c*). — Fosfataza alcalină la larva de *Ambystoma punctatum* (după Karczmar și Berg): *a*, Prima zi după amputare: *C*, diafiza humerală; *E*, scufița apicală; *M*, mușchi. *b*, Ziua a 3-a după amputare: *H*, hipoderm; *P*, pericondru; *M*, mușchi. *c*, Ziua a 5-a d upă amputare: *Bm*, mezenchim; *C*, epifiza humerală; *M*, mușchi; *Ch*, cartilaj hialin; *H*, hipoderm.

Scanned with OKEN Scanner

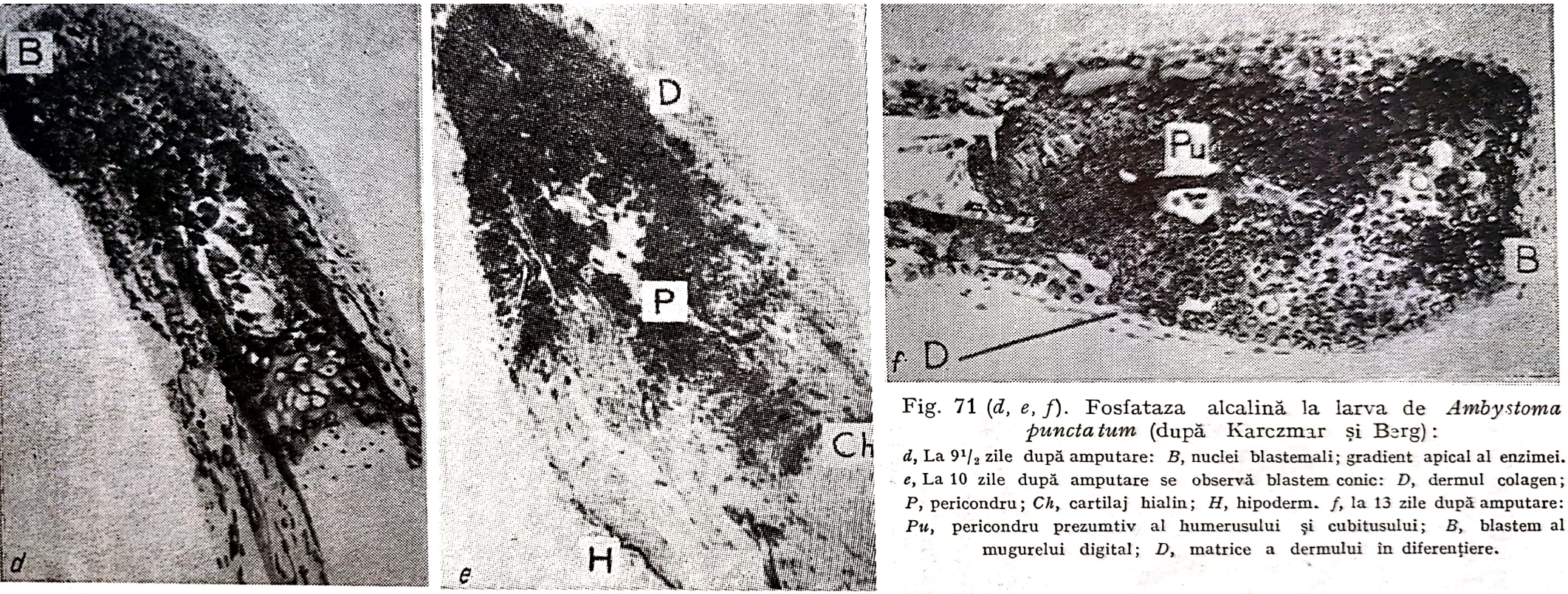


Fig. 71 (*d*, *e*, *f*). Fosfataza alcalină la larva de *Ambystoma punctatum* (după Karczmar și Berg):

d, La $9^1/_2$ zile după amputare: *B*, nuclei blastemali; gradient apical al enzimei. *e*, La 10 zile după amputare se observă blastem conic: *D*, dermul colagen; *P*, pericondru; *Ch*, cartilaj hialin; *H*, hipoderm. *f*, la 13 zile după amputare: *Pu*, pericondru prezumtiv al humerusului și cubitusului; *B*, blastem al mugurelui digital; *D*, matrice a dermului în diferențiere.

Scanned with OKEN Scanner

reacția devine foarte activă în celulele blastemale. În zilele 19—23, celulele blastemale subepiteliale își intensifică reacția FA, care la 25 de zile scade în toate celulele blastemale (fig. 72 și 73).

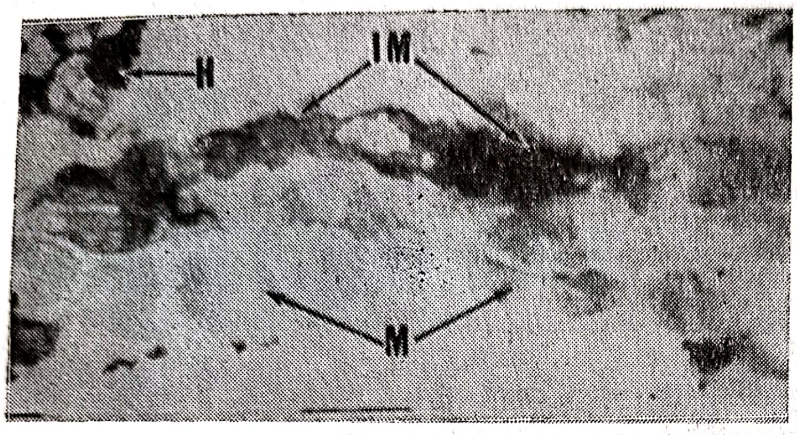


Fig. 72. — Fosfataza alcalină în miofibrilele unei fibre musculare lezate comparativ cu o fibră musculară nelezată (după Schmidt și Weary):

H, histiocit; *IM*, miofibrilă lezată; *M*, miofibrilă nelezată.

În regenerarea cozii la triton (942), activitatea enzimatică se desfășoară la fel, formarea blastemului fiind însoțită de augmentarea cantității de enzimă.

Se pare că celulele blastemale reactive funcționează în procesul de fibrinogeneză. Se mai constată că reacția puternică a enzimei la acest nivel este asociată și cu producerea și utilizarea polizaharidelor.

Cercetările efectuate pe cale biochimică asupra homogenatelor cozii de *Triton cristatus* (366) au stabilit că activitatea FA este slabă în procesele inițiale ale regenerării, apoi augmentează pînă la un maxim situat în ziua a 10-a (momentul formării blastemului), după care urmează o descreștere a activității și din nou o creștere pînă la un maxim în ziua a 20-a (stadiul de diferențiere). Prin urmare, în tot cursul dediferențierii țesuturilor are loc o creștere treptată a FA, creștere care atinge maximul odată cu formarea blastemului. Cercetările biochimice confirmă deci cercetările histochimice cu privire la evoluția FA în timpul regenerării.

În regenerarea cozii mormolocilor, studiile lui JUNQUEIRA (566) au constatat în fibroblaste doar o FA nucleară, reacția citoplasmatică fiind absentă sau slabă. Această reacție prezintă un puseu la 15 zile de la amputare. În regenerarea cozii la mormolocii tineri (15 mm), fibroblastele conțin mai multă FA decît cele ale mormolocilor mai vîrstnici (30 mm). Enzima augmentează în fibroblaste în cursul regenerării cozii.

La amfibiile anure *(Bombinator)*, FA este foarte abundentă în glandele corionului, în cantitate mare în stratul bazal al epiteliului, suficientă în stratul epitelial germinativ, redusă în stratul epitelial cornos și în țesutul conjunctiv subepidermic și absentă în țesutul conjunctiv compact al pielii normale. În regenerarea pielii, FA păstrează aceeași distribuție și intensitate ca și în pielea normală (937).

La reptile *(Emys, Testudo)*, FA este redusă în epiteliu, mai evidentă în celulele conjunctive și absentă în celelalte celule ale pielii normale. În regenerarea cozii, la 12—14 ore de la lezare, FA devine intensă în țesuturile de la marginea plăgii (epiteliu, corion) și în țesutul regenerativ. La 3 zile după lezare, toate țesuturile regenerative, precum și cele de la marginea plăgii sînt puternic fosfatazate, enzima scăzînd însă în cantitate pe măsură ce ne

Scanned with OKEN Scanner

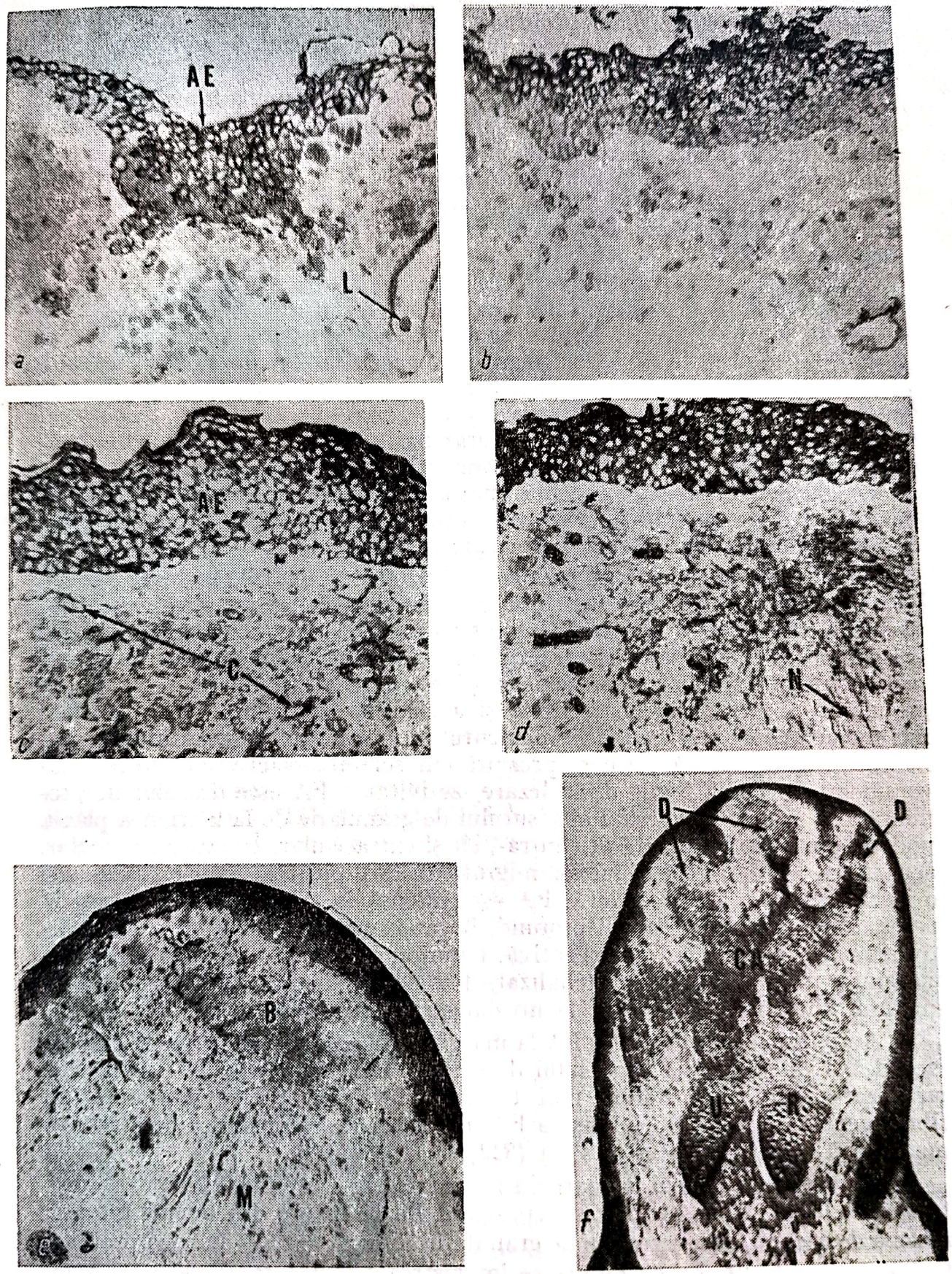


Fig. 73. — Fosfataza alcalină în regeneratul de membru de triton (după Schmidt și Weary): *a*, De 24 de ore: *AE*, epiteliu apical; *L*, leucocit. *b*, De 5 zile: *AE*, epiteliu apical. *c*, De 8 zile: *AE*, epiteliu apical; *C*, capilare. *d*, De 11 zile: *AE*, epiteliu apical; *N*, nerv. *e*, De 19 zile: *B*, blastem; *M*, mușchi. *f*, De 39 de zile: *D*, deget; *CA*, carp; *U*, cubitus; *R*, radius.

Scanned with OKEN Scanner

îndepărtăm de plagă. La 7 zile de la lezare, FA se întîlnește doar în țesutul de granulație, iar la 9 zile începe să dispară din țesutul de granulație și din corionul neoformat (939).

La păsări *(Gallus)*, FA este absentă în pielea normală a puilor de găină foarte tineri, cu excepția țesutului conjunctivo-adipos lax, unde valoarea ei este destul de scăzută. La 2 ore după lezare, enzima devine intensă la nivelul țesuturilor subepidermice, pentru ca la 4 ore să înceapă să scadă. FA redevine extrem de intensă, la același nivel, la 12 ore, menținîndu-se constantă pînă la 5 zile după lezare. Apoi, enzima începe să scadă, pentru a dispărea la 7 zile după lezare (937).

În vindecarea rănilor superficiale ale pielii la cobai (963), (1276), la cîteva ore după intervenție se constată o activitate fosfatazică în țesuturile de la marginea plăgii. În tot cursul regenerării, FA prezintă două maxime de activitate: unul în legătură cu migrarea leucocitelor în plagă, altul legat de diferențierea fibrelor colagene. Astfel, reacția este evidentă între 12 și 24 de ore în celulele leucocitare infiltrative (primul maxim), după care dispare din straturile superficiale ale țesutului de granulație. La 72 de ore, enzima reapare în ambele straturi ale țesutului de granulație (fibroblaste, histiocite și leucocite), devenind tot mai abundentă, mai ales în stratul productiv superficial, pînă la al doilea maxim. În stratul profund, mai bogat în fibre colagene, în urma diferențierii acestor fibre, reacția diminuează.

În regenerarea pielii la șobolani (322), (1415), (1416), în toate stadiile cicatrizării există, la suprafața țesutului de granulație, un strat leucocitar necrotic, prezentînd o activitate FA intens pozitivă. Enzima lipsește însă din epiteliu în tot cursul regenerării, probabil datorită faptului că în keratinizarea pielii structura chimică a proteinelor diferă de cea din fibrele țesutului de granulație. Cu excepția histiocitelor și a celulelor sanguine, nu se constată nici o reacție subapicală pînă în momentul formării celulelor țesutului de granulație. Acesta, odată format, prezintă, în schimb, o activitate fosfatazică considerabilă. După 5 zile de la lezare, activitatea FA este deosebit de pronunțată în stratul superficial al țesutului de granulație de la marginea plăgii, unde enzima este localizată atît intra-, cît și extracelular. În stratul vascular, activitatea fosfatazică a celulelor migratoare este pozitivă, constatîndu-se și o slabă activitate extracelulară. FA este intensă în celulele endoteliale și în pereții arteriolelor. În stratul profund, bogat în fibre colagene, FA este relativ scăzută. În epiteliu, este negativă. Ulterior, în țesutul de granulație de la marginea plăgii, complet epitelializat, FA devine negativă, intensitatea ei maximă fiind în acel moment la nivelul stratului vascular.

Activitatea pronunțată a FA la marginile plăgii încă din primele zile ale cicatrizării este expresia procesului de sinteză a proteinei fibrilare (colagen), iar negativizarea ei în stadiile mai tardive relevă terminarea procesului de fibrinogeneză. Activitatea intensă a FA în stratul vascular indică o activitate metabolică crescută a acestui strat (322), (1415), (1416).

În regenerarea pielii la șoareci se constată, la 4 ore după lezare, o creștere a FA la nivelul țesuturilor subepiteliale. La 24 de ore, FA devine intensă în zona de organizare a țesutului de granulație și foarte intensă în zona productivă a acestui țesut. La 48 de ore se înregistrează o ușoară scădere a FA în zona de organizare, de unde, la 7 zile, dispare, rămînînd foarte intensă în zona productivă a țesutului de granulație. După 14 zile de la lezare, FA revine la

Scanned with OKEN Scanner

normal (937). În regenerarea epidermului iradiat al șoarecilor are loc o creștere a FA în zonele periferice ale epidermului și ale corionului (463).

În regenerarea pielii la om, FA se comportă ca și la șobolani (89).

Rolul FA în regenerarea organelor externe pare să fie multiplu. Prezența enzimei nu ar fi corelată numai cu procesele de multiplicare celulară, întrucît ea apare — și chiar augmentează — și în celulele dediferențiate, la care nu se stabilesc încă mitoze. Creșterea FA în cursul regenerării ar fi legată, în primul rînd, de procesul de scindare a ATP, ceea ce conduce la acumularea de ARN și glicogen, dovadă că enzima se întîlnește în regiunile bogate în glicogen, unde are loc fosforilarea glicogenului (524), (525). Prin intermediul ARN, enzima ar participa la sinteza proteinelor celulare și fibrilare, paralelismul dintre activitatea FA și ARN în cursul colagenizării țesutului de granulație constituind o dovadă în sensul celor menționate. Faptul că a fost pusă în evidență absența FA și a proteinelor -SH la nivelul epiteliului regenerativ pledează în același sens, dat fiind că nu există la acest nivel un proces viguros de sinteză proteică, epiteliul regenerativ neprezentînd decît procese de migrare și de proliferare. În perioada formării colagenului, activitatea FA din țesutul de granulație este considerabilă, permițînd transformarea procolagenului în colagen în cursul procesului de fibrilogeneză (formarea proteinelor fibrilare). Negativizarea reacției FA este legată de terminarea procesului de colagenizare (46), (114), (121), (122), (154), (231), (322), (345), (352), (524), (525), (1303).

Din aceleași motive se consideră că enzima ar juca un rol important în formarea substanței intercelulare a țesutului mezenchimatos hepatic (1134).

Enzima ar mai fi și indicatorul diferențierii celulare în regenerare (579). Absența enzimei din epiteliul regenerativ este probabil legată de faptul că sinteza proteică de la nivelul epiteliului diferă de cea de la nivelul blastemului regenerativ.

În ceea ce privește comportamentul enzimei în *regenerarea organelor interne*, vom începe cu situația FA în regenerarea ficatului de șobolan, problemă ce a preocupat numeroși cercetători (227), (339), (352), (629), (634), (947), (950), (997), (1017), (1235), (1295), (1343). Aceștia au constatat că, în general, enzima, absentă în ficatul normal, suferă o augmentare în cursul primei faze, hiperplazice, a regenerării. Astfel, cercetările biochimice cantitative au stabilit o creștere între 24 și 41 de ore după hepatectomie (1343). Cercetările histochimice calitative au arătat că, în general, activitatea enzimei crește brusc, atingînd un maxim la 12—18 ore după operație, cînd este de 7 ori mai abundentă decît în ficatul normal. Situația se menține la același nivel pînă la 48 de ore, după care enzima începe să diminueze, menținîndu-se totuși ridicată pînă la 24 de zile de la operație (fig. 74). În această perioadă, FA este inegal repartizată în lobulul hepatic, repartiția ei fiind exprimată printr-un gradient descrescînd de la periferie către centru. De la această dată, începe o scădere semnificativă a enzimei în hepatocitele ficatului în regenerare. Pe de altă parte, între 24 și 48 de ore de la operație, FA devine pozitivă în stroma reticulară, în stroma intralobulară și în celulele Kupffer, în ultimele rămînînd bogată pînă la 24 de zile de la operație, ceea ce arată rolul ei în formarea substanței intercelulare a țesutului mezenchimatos hepatic. Deci, FA crește semnificativ în prima perioadă a regenerării (faza hiperplazică), în urma creșterii metabolismului sintezei substanței intercelulare și a proteinelor. Enzima rămîne însă abundentă, cu toate că suferă o scădere treptată, dar

Scanned with OKEN Scanner

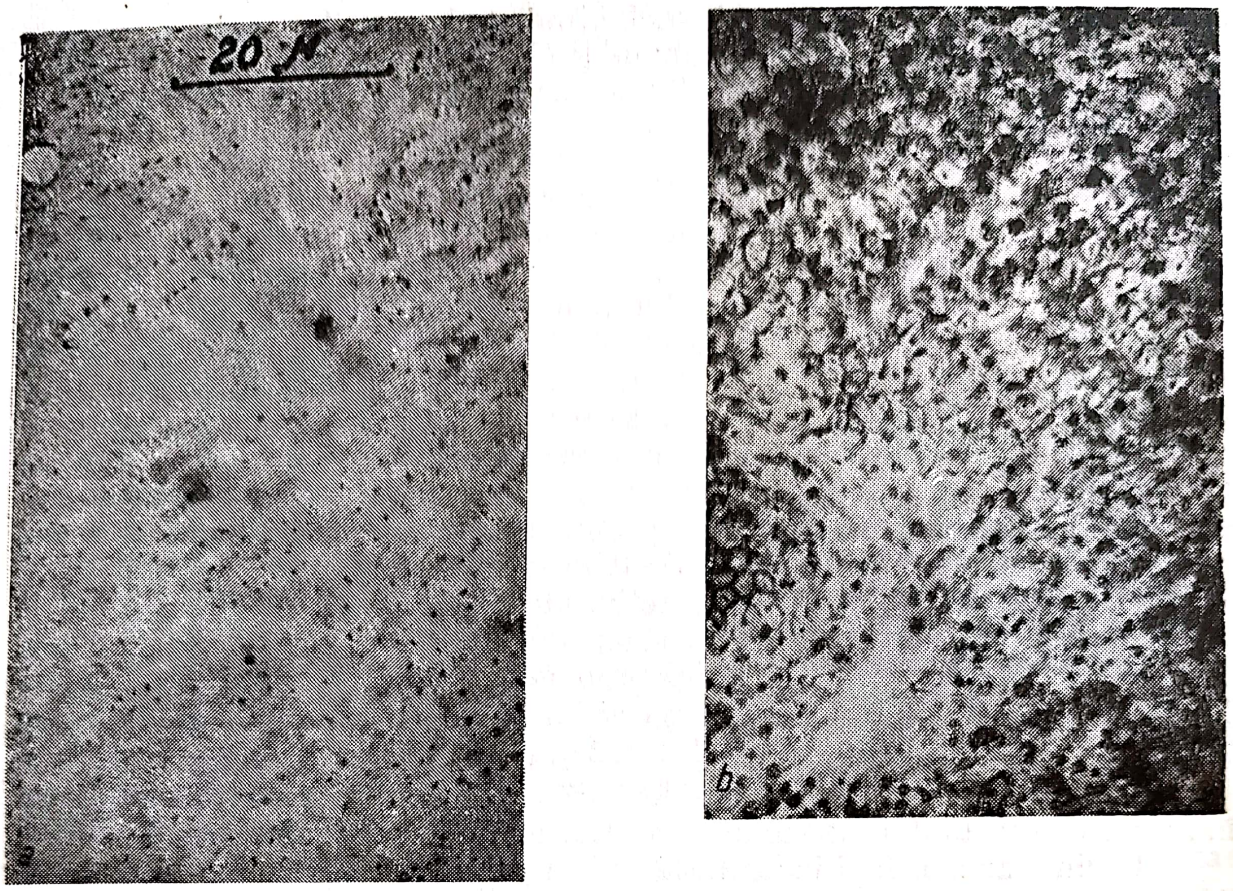


Fig. 74. — Fosfataza alcalină (Mg senzitivă) (după Vorbrodt): *a*, în ficatul normal de șobolan; *b*, în ficatul regenerat de 24 de ore; *c*, în ficatul de șobolan regenerat, a 7-a zi după amputarea unei mase hepatice de 60%.

ușoară, în trecerea de la faza de dominare a hiperplaziei la cea de dominare a hipertrofiei, adică între 14 și 21 de zile de la operație (950). Abia după încheierea fazei de hipertrofie (24 zile), FA începe să scadă semnificativ în ficatul regenerativ, pentru a atinge nivelul ei normal.

Scanned with OKEN Scanner

După unii autori (1017), (1295), enzima ar crește doar în nuclei. Alți autori (339) au arătat că enzima crește considerabil și în citoplasmă pînă la 72 de ore după operație, cînd începe o descreștere.

Unele neconcordanțe în ceea ce privește intensitatea activității enzimatice în decursul regenerării ficatului au putut fi explicate pe baza faptului că situația enzimei depinde de cantitatea de masă hepatică extirpată. Astfel, cînd se extirpă doar 20% din ficat, enzima este absentă în cursul regenerării, reacționînd doar unele celule Kupffer. Atunci cînd se extirpă însă 60% din masa hepatică, activitatea enzimatică se desfășoară conform tabloului descris anterior (947).

În regenerarea corticalei suprarenale de șobolan, cantitatea de FA per celulă crește odată cu regenerarea, atingînd un maxim care se observă în ziua a 15-a după suprarenalectomia parțială (862). Se mai constată și creșterea FA în pereții sinusurilor corticalei suprarenale în cursul regenerării glandei (1337).

În regenerarea mușchilor scheletici se observă augmentarea FA în țesutul conjunctiv din jurul leziunii, precum și în mioblastele și miotubii regenerativi (61).

Fosfataza acidă (Fa) are, în general, o distribuție și o evoluție paralele cu cele ale FA, excluzînd epiteliul, unde cele două fosfataze au un comportament opus. În țesuturile subepiteliale, enzima prezintă, în primele faze ale regenerării, o reacție puternică în histiocitele subapicale. Fibroblastele subapicale au însă numai o slabă reacție citoplasmatică. În cursul formării blastemului, în celulele blastemale apare o concentrare de Fa în jurul și pe fața internă a membranei celulare. În celulele care formează centre condrogenetice, reacția este slabă și nu crește decît în condroblastele hipertrofiate și în osteoblaste.

Astfel, în regenerarea membrelor la tritonul adult (366), (1064), (1065), (1066), (1071), (1151), enzima, localizată în citoplasma celulelor, este prezentă în epiteliul apical în tot cursul regenerării fără a arăta diferențe notabile, în timp, față de restul epiteliului intact (fig. 75). Anumite focare de activitate intensă sînt datorate activității fagocitare a celulelor epiteliale, reflectînd probabil încorporarea granulelor de glicogen. O presărare a epiteliului prin histiocite migratoare permite, în anumite centre, o activitate Fa puternică a epiteliului apical (1065), (1151).

În țesuturile subepiteliale, în primele zile după lezare, enzima prezintă o reacție accentuată în capetele amputate ale nervilor și mușchilor, în celulele sanguine și histiocite. În stadiile preblastemic și blastemic are loc o augmentare constantă a enzimei în celulele blastemale, în condroblastele hipertrofice din centrele osteogenetice și în periost. În mioblastele regenerative, cea mai intensă reacție se desfășoară în musculatura bazală. Osul pe cale de formare și matricea cartilaginoasă nu sînt reactive (1064), (1065), (1066), (1071), (1151).

În homogenatele din coada regenerativă de triton, se constată două maxime de activitate: unul în faza de blastem tînăr (10—15 zile de la amputare) și altul în faza de blastem matur (15—20 zile), acest al doilea puseu reflectînd apariția scheletogenezei (366).

După unii autori, enzima n-ar participa în regenerarea cozii larvelor de amfibii, în sensul că n-ar exista diferențe între activitatea enzimatică a țesuturilor normale și a celor regenerative (566). Totuși, alți autori (366),

Scanned with OKEN Scanner

(457) au observat o creştere remarcabilă a enzimei în blastemul tînăr al larvelor de urodele şi anure, după care activitatea enzimatică scade. Astfel, la mormolocii de *Xenopus laevis*, enzima prezintă o augmentare în ţesuturile subapicale în special în ziua a 5-a după amputare, deci într-un stadiu foarte tînăr al mormolocului (457).

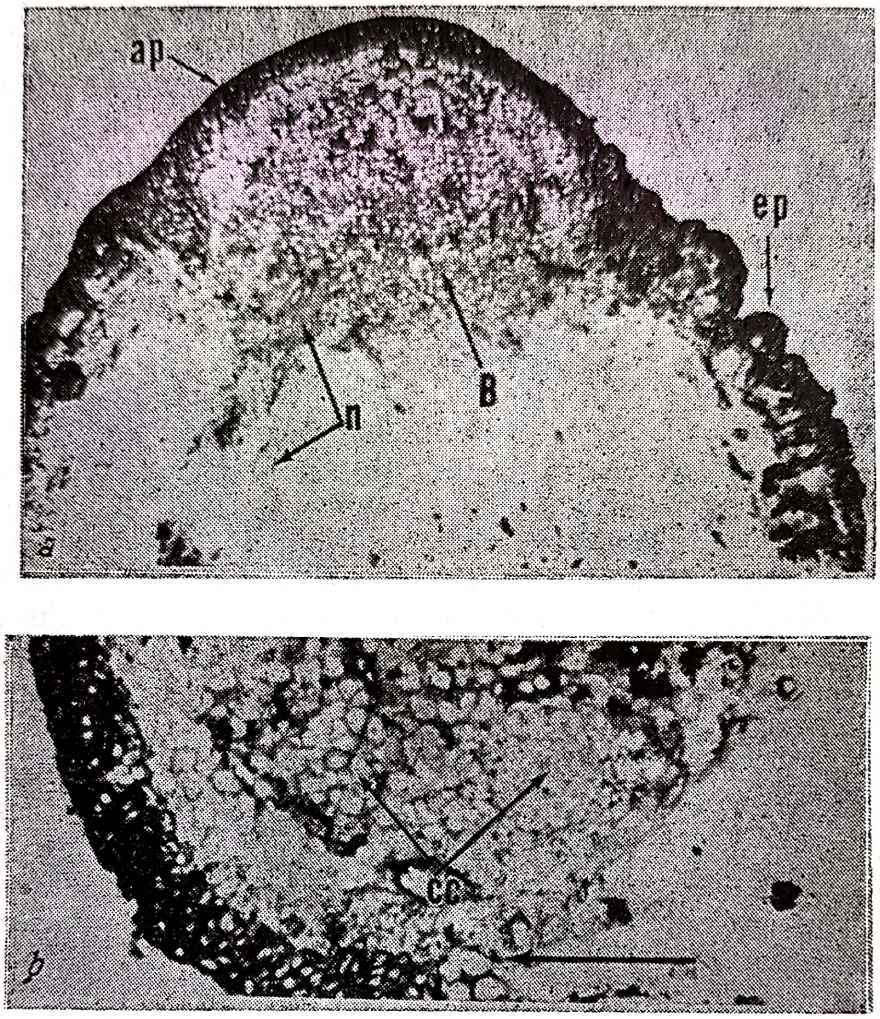


Fig. 75. — Fosfataza acidă în membrul regenerativ de triton (după Schmidt şi Weary):
a, La 19 zile după amputare: *ap*, epiteliu apical; *B*, blastem; *ep*, epiteliu; *n*, nerv.
b, La 32 de zile după amputare: *cc*, precartilaj.

După alţi autori (178), (963), regenerarea pielii la mamifere n-ar fi însoţită de un răspuns enzimatic al epiteliului, închiderea plăgii şi migrarea epiteliului nefiind afectate de prezenţa sau de absenţa Fa. Această enzimă ar fi însă abundentă la nivelul stratului leucocitar necrotic al pielii regenerative de şobolan la 24 de ore după lezare. Alţi autori (1414) susţin că enzima este întîlnită în straturile bazal şi granular ale epiteliului regenerativ al pielii de şobolan.

În regenerarea pielii la cobai (963), Fa este prezentă, la cîteva ore după intervenţie, în ţesuturile subepiteliale de la marginea plăgii.

În regenerarea pielii la şobolan (1414), la 24 de ore de la lezare, unele elemente subepiteliale prezintă activitate enzimatică slabă, în timp ce în straturile profunde majoritatea celulelor sînt lipsite de activitate enzima-

tică. Această situație se menține pînă la 3 zile, cînd enzima augmentează în regiunile periferice ale plăgii și în stratul vascular, aspect întîlnit pînă la 12 zile, după care activitatea enzimei crește foarte mult în stratul vascular. La 15 zile, activitatea enzimatică a regiunilor marginale încetează.

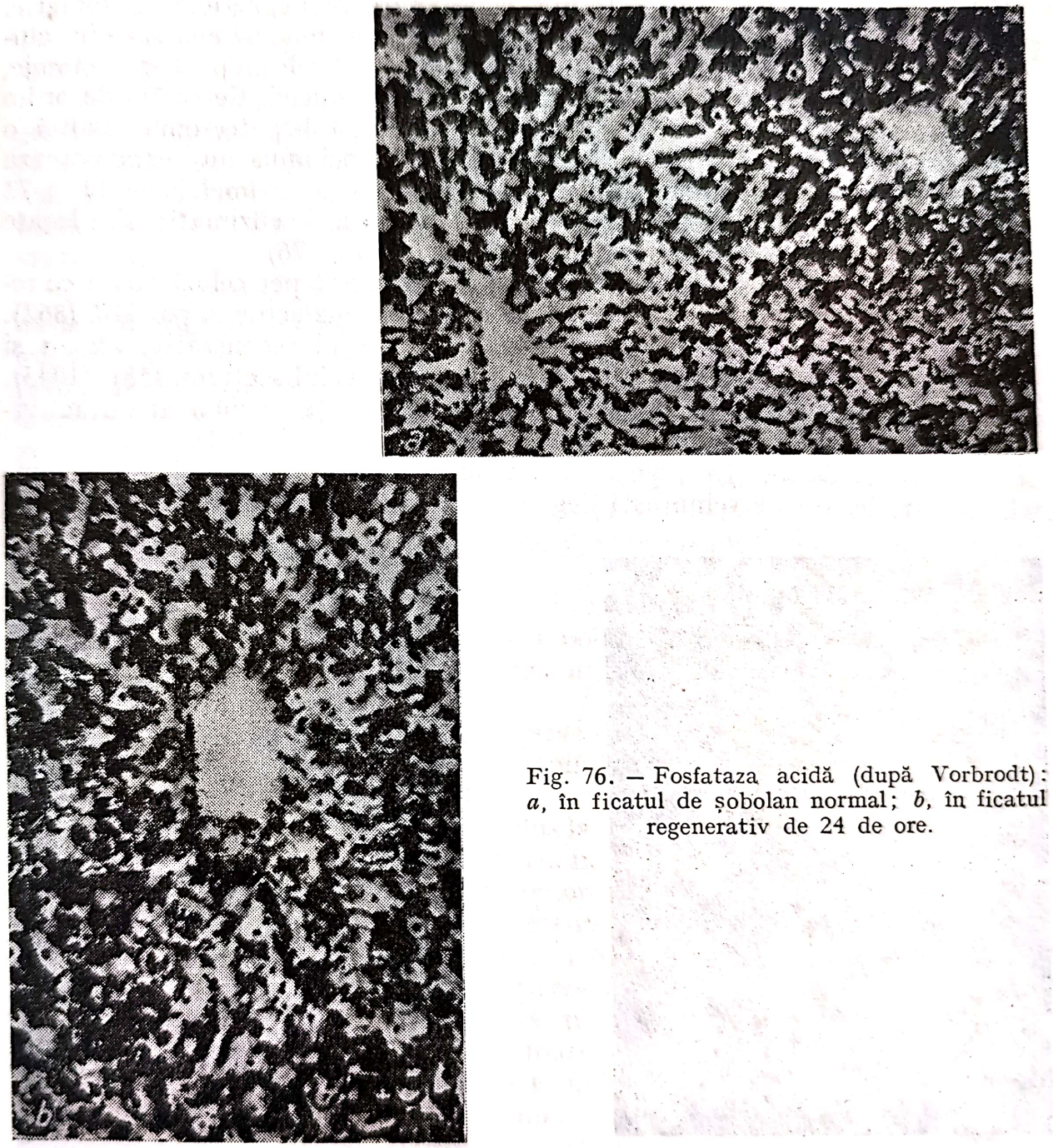


Fig. 76. — Fosfataza acidă (după Vorbrodt): *a*, în ficatul de șobolan normal; *b*, în ficatul regenerativ de 24 de ore.

În regenerarea pielii la om (89), proliferarea epiteliului este legată de schimbări degenerative grăsoase și vacuolare din țesutul de granulație, schimbări precedate de creșterea Fa.

Se pare că enzima are rolul de a procura materialele necesare regenerării, prin sciziunea compușilor fosfați preexistenți (457). Fa este implicată în procesele de fibrilogeneză, participînd la sinteza proteinelor fibrilare și a keratinei, precum și în formarea membranei bazale a epidermului. Pe de altă parte, prezența enzimei este asociată cu procesele de autoliză celulară (1368). Se constată asocierea dintre activitatea enzimei, activitatea cateptică proteoli-

Scanned with OKEN Scanner

tică, în stadiul de preblastem și de blastem (262), și activitatea β-glucuronidazei (277), cele trei enzime fiind localizate în lizosomi.

În regenerarea ficatului de șobolan (339), (629), (634), la 9 ore după hepatectomia parțială, apar în celulele parenchimatoase numeroase forme sferice, bogate în Fa. Aceste forme, considerate drept vezicule autofagice, dispar după 24—28 de ore de la hepatectomie. Enzima augmentează în celulele parenchimului hepatic, atingînd un maxim la 4 zile după hepatectomie, cînd este abundentă în citoplasmă și absentă în nuclei. Cercetări de ordin cantitativ (1343), efectuate la 21—41 de ore după hepatectomie, indică o creștere simțitoare a enzimei microsomale. Histochimia nu demonstrează însă decît modificări imperceptibile de augmentare a enzimei între 12 și 72 de ore după hepatectomie. Se pare deci că modificările enzimatice sînt legate de perioada hiperplazică a regenerării ficatului (fig. 76).

În regenerarea suprarenalei de șobolan, Fa crește per celulă odată cu regenerarea, atingînd un maxim la 15 zile după suprarenalectomia parțială (862).

La mamifere, enzima este activă și în nervul regenerativ, axonii și mielina prezentînd o înaltă reacție fosfatazică la nivelul secțiunii (58), (1043).

În sfîrșit, în cursul regenerării mușchilor striați, enzima are o activitate foarte intensă în mioblastele și în miotubii regenerativi (61).

5′-*Nucleotidaza*. În regenerarea plăgilor la om (89), proliferarea epiteliului este legată de schimbări degenerative grăsoase și vacuolare în țesutul

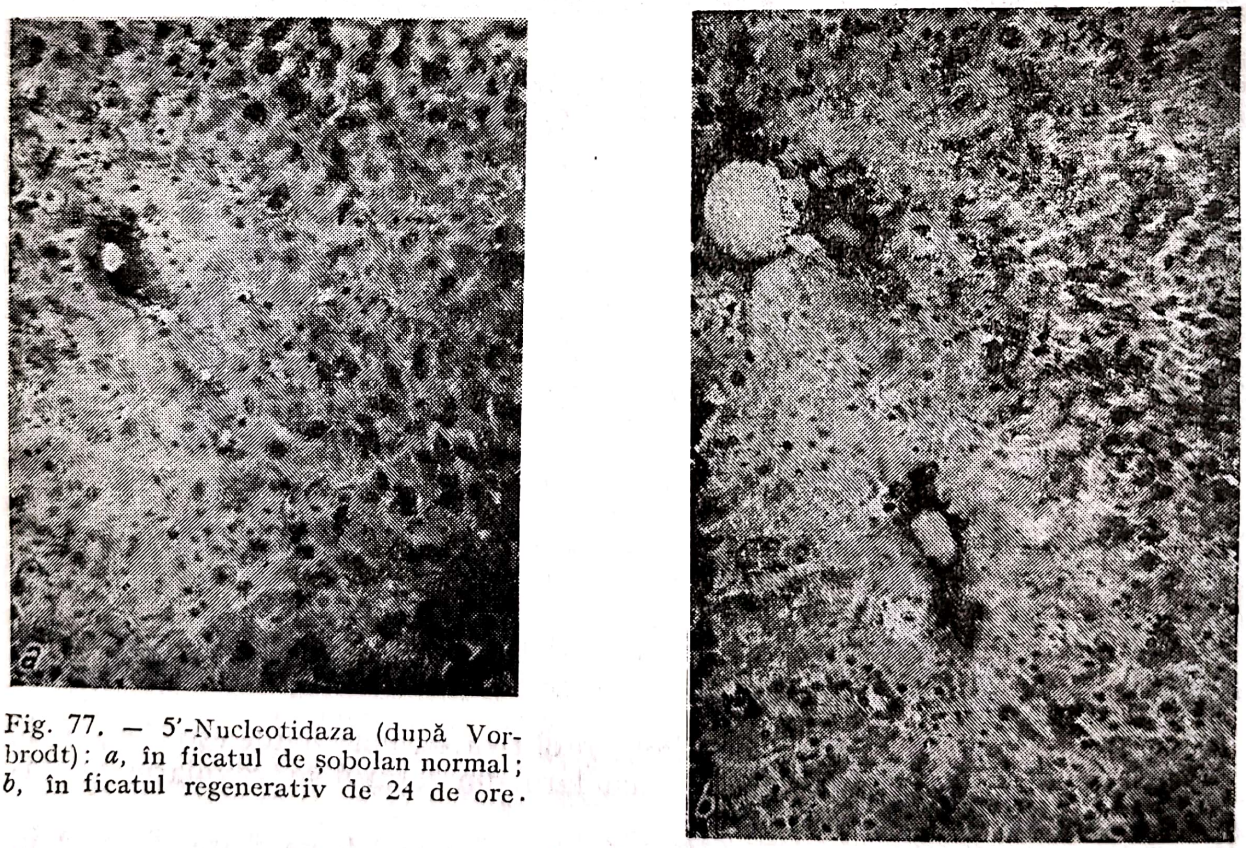


Fig. 77. — 5′-Nucleotidaza (după Vorbrodt): *a*, în ficatul de șobolan normal; *b*, în ficatul regenerativ de 24 de ore.

de granulație, schimbări precedate de o augmentare a cantității de enzimă.

În regenerarea mușchilor scheletici, se constată creșterea nivelului enzimei în țesutul conjunctiv din jurul leziunii.

În regenerarea ficatului de șobolan după hepatectomie parțială (629), (634), (1343), enzima nucleară este imperceptibil modificată între 12 și 72

Scanned with OKEN Scanner

de ore după operație, crește apoi atingînd un maxim la 4 zile de la amputare, după care descrește ajungînd la valoarea ei normală în ziua a 8-a (fig. 77). Totuși, anumite cercetări (955) au stabilit că, într-un stadiu foarte tardiv (la 1 an) după hepatectomia a 75% din masa ficatului, acesta mai prezintă o activitate enzimatică puternică.

Ribozo-5-fosfataza suferă o accentuare în ficatul regenerativ de șobolan la 1 an după o hepatectomie privind 75% din masa hepatică (955).

Glucozo-6-fosfataza augmentează în celulele blastemale imature ale regeneratului membrului la amfibii. În regenerarea ficatului de șobolan, între 12 și 72 de ore de la hepatectomia parțială au fost observate augmentări ușoare ale enzimei (1343). Într-un stadiu foarte tardiv (la 1 an) de la hepatectomia a 75% din masa hepatică, se constată o slabă accentuare a enzimei (955).

La efectuarea regenerării mai contribuie *dezoxiribonucleazele* și *ribonucleazele* (fosfodiesteraze). Astfel, în regenerarea membrelor la triton, apare augmentarea acestor enzime în blastemul de regenerare (203), (247), (490), (846), (1018). În regenerarea ficatului de șobolan, în ziua a 2-a are loc debutul activității DN-azei II (nucleare), activitate care augmentează cu 50% în ziua a 4-a și dispare în ziua a 8-a. Creșterea DN-azei precedă și însoțește creșterea ADN, nivelul ei rămînînd însă ridicat chiar atunci cînd nivelul sintezei de ADN începe să scadă sau revine la normal (106). Alte cercetări au dovedit că DN-aza joacă un rol important în proliferarea celulară a țesuturilor în regenerare (136), (1018).

O evoluție similară are și RN-aza, care precedă și însoțește augmentarea ARN. În regenerarea ficatului de șobolan se constată o slăbire a reacției în primele 3 zile, o bruscă augmentare în ziua a 4-a și o revenire la normal în ziua a 7-a (629), (634).

Pe de altă parte, din ficatul regenerativ al șobolanilor s-au izolat fracțiuni enzimatice implicate în sinteza poliribonucleotidelor din adeninnucleotide (105).

Studiul **carbohidrazelor** s-a redus la studiul β-*glucuronidazei*, enzimă a cărei activitate este direct corelată cu intensitatea proliferării celulare. În regenerarea membrelor anterioare la triton, enzima începe să crească considerabil în epiteliul regenerativ din momentul epitelializării plăgii, activitatea fiind maximă la sfîrșitul celei dintîi și la începutul celei de-a 2-a săptămîni, după care descrește odată cu diferențierea țesuturilor subepiteliale. În aceste ultime țesuturi, enzima augmentează puternic în stadiile preblastemic și blastemic, fiind prezentă în cantitate mare în celulele blastemale, în condrocitele hipertrofice și în osteoblaste. În țesuturile subepiteliale în dediferențiere (mușchi, periost), se constată o diminuare cantitativă a enzimei, cu excepția celulelor osoase, unde enzima are o activitate crescută. În fine, procesul diferențierii este legat de o scădere progresivă a enzimei din țesuturi (277), (819), (820). Augmentarea considerabilă a enzimei din blastem poate fi pusă pe socoteala capacității înalt proliferative a acestor celule (1163), (1165) (fig. 78).

În regenerarea suprarenalelor la mamifere, enzima își micșorează activitatea în perioada primelor luni. Cantitatea ei relativă se mărește însă, atingînd un maxim la 15 zile după amputare (862).

În ficatul regenerativ de șobolan, la 9 ore după hepatectomia parțială apar în hepatocite numeroase forme sferice, care, alături de o înaltă activitate Fa, DN-azică și catepică, au și o bogată activitate β-glucuronidazică.

Scanned with OKEN Scanner

Aceste formațiuni eozinofile, PAS-pozitive și lipsite de lipide dispar la 24—28 de ore după hepatectomie, fiind considerate drept vacuole autofagice (1344).

Un grup de hidrolaze foarte bine studiat în procesul regenerativ îl constituie **peptidazele** (enzimele proteolitice sau protezele).

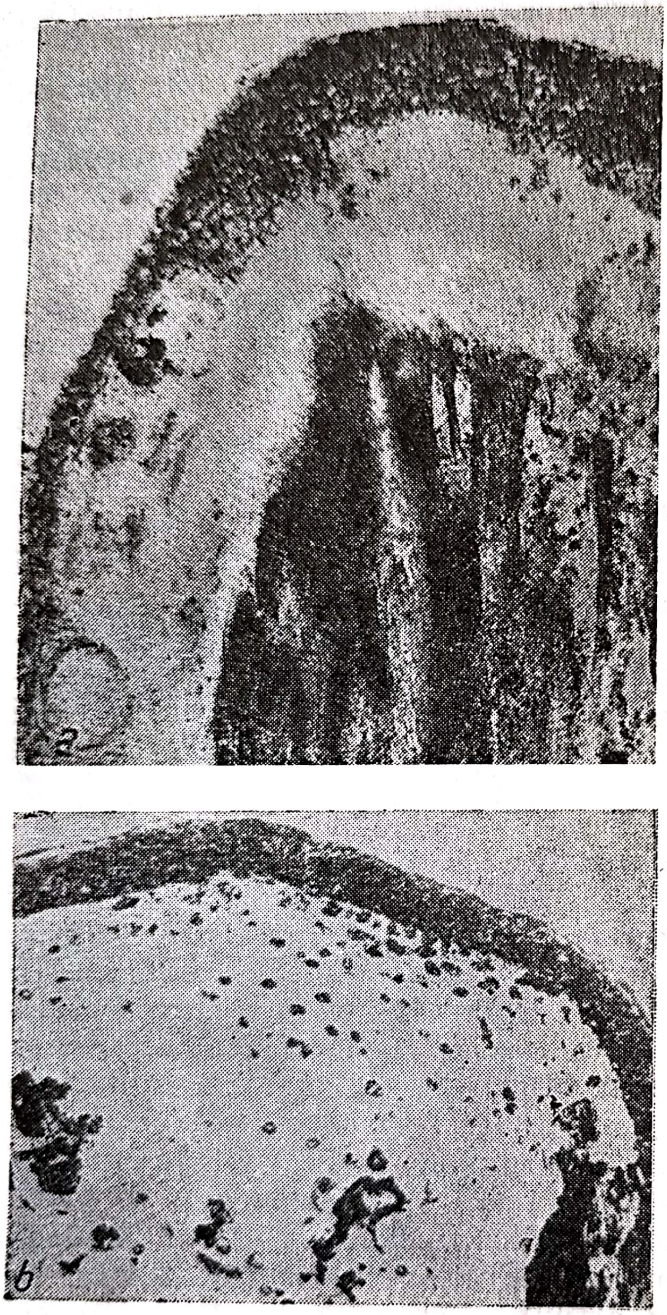


Fig. 78. — β-Glucuronidaza din membrul de triton amputat (după Dukiel și Niwelinski): *a*, la 24 de ore după amputare; *b*, la 5 zile după amputare.

Este în prezent cunoscut (1314), (1315), (1316) că enzimele proteolitice nu au numai rolul de a hidroliza o moleculă proteică, ci și de a lega în anumite condiții aminoacizii între ei. De aici se conchide că în regenerare enzimele proteolitice nu joacă un rol important numai în procesele de autoliză, ci și în cele de morfogeneză (creștere și diferențiere), fiind posibile relații între protează și diferențierea celulară. Se poate spune deci că enzimele proteolitice participă atît la degradarea, cît și la sinteza proteinelor, de unde rolul lor în regenerare.

Anumite experiențe au demonstrat că, în miogeneza larvelor de urodele, fragmente musculare anucleate contribuie, prin activitatea lor proteolitică (137), la formarea *pool*-ului de aminoacizi (1339), care sînt utilizați în edificarea materialelor morfogene, adică la reconstruirea membrului amputat (1212).

S-a stabilit, pe de altă parte, că funcția proteolitică a epiteliului regenerativ asupra țesuturilor lezate ale bontului membrului amputat are o mare importanță în dediferențierea țesuturilor și deci în formarea blastemului (893), (1264).

URBANI (1314),(1315),(1316) a constatat astfel un paralelism nu numai între evoluția protezelor și sinteza proteinelor, dar și între comportamentul protezelor, îndeosebi al dipeptidazelor, și ARN, care este realizatorul sintezei proteice, în cursul creșterii și al diferențierii regenerative. Aceste cercetări sînt legate și de studiile efectuate de BINKLEY, care a demonstrat că enzima alanil-glicin-dipeptidaza, cu rol în regenerare, are o structură polinucleotidică.

Scanned with OKEN Scanner

Rolul important al proteazelor în procesul regenerativ este dovedit de faptul că activitatea proteazică este mai ridicată în blastemele cozii și ale membrelor de urodele sau în blastemul cozii larvelor de anure decît în țesutul integru al bontului membrului amputat (137), (837), (838) (839), (840), (841).

Proteazele acide, localizate în citoplasma celulară sau în lizosomi, mediază hidroliza proteinelor. Ele au un pH de 4,8 și acționează în special în faza de dediferențiere a regeneratului, adică imediat după lezare.

Astfel, în regenerarea cozii de triton, proteazele se modifică atît în regenerat, cît și în țesuturile bontului regenerativ (țesuturile distale situate imediat sub regenerat). Enzimele sînt abundente în regiunea bontului și a blastemului, lipsind în zonele mai îndepărtate de bontul regenerativ. Se constată o activitate maximă corelată cu procesele de dediferențiere. În țesuturile subepiteliale, proteazele scad imediat după amputare, cresc apoi treptat după ziua a 2-a, atingînd un maxim la 11 zile, după care urmează o scădere (68), (155).

În regenerarea cozii larvelor de *Bufo vulgaris*, are loc aceeași modificare a enzimelor (cazeinproteinaza) ca și în cazul regenerării cozii de triton. Se constată o creștere considerabilă a proteinazei acide în zilele imediat următoare amputării, după care enzima revine la valori normale (182), (183).

În regenerarea cozii la larvele de *Pelobates fuscus*, în tot cursul regenerării (2—14 zile) se remarcă un nivel înalt al gelatinproteinazei, cu un maxim în ziua a 3-a (839).

În regenerarea nervului sciatic la șobolan, enzimele cresc în zilele 5—6 în bontul proximal al nervului secționat. În bontul distal, activitatea maximă se înregistrează în ziua a 13-a. Comportamentul enzimei depinde de modificările particulare din celulele tecii Schwann, celulele peri- și epineurale (40).

În ficatul parțial hepatectomizat de șobolan, se constată o scădere oscilantă a enzimei în primele 2—3 zile, o creștere peste valoarea normală între a 4-a și a 7-a zi (cu maximul la 5—6 zile) și o diminuare pînă la 12—14 zile, moment cînd enzima revine la normal. Activitatea enzimei este legată de procesele de dediferențiere și de multiplicare celulară (41), (204), (465), (756).

Dintre aceste enzime a fost studiată îndeosebi *catepsina*. Astfel, la larvele de amfibii s-a observat că enzima augmentează puternic în cursul formării blastemului (faza de proteoliză) și diminuează în timpul maturizării (faza de proteosinteză), în ultima etapă constatîndu-se o augmentare remarcabilă a cantității de aminoacizi (73), (262), (555), (654), (837), (839), (841), (1365), (1366), (1433).

Cu ajutorul metodelor biochimice, s-a evidențiat că, în regenerarea cozii la mormolocii de *Xenopus*, catepsina augmentează continuu pînă în ziua a 7-a (555) sau a 8-a (262) de la amputare, cînd atinge un nivel triplu față de cantitatea de la care a pornit, nivel ce se menține pînă în a 11-a zi, după care începe să scadă pînă la 20—25 de zile de la amputare. Între 5 și 8 zile, activitatea cateptică este mult mai ridicată în regenerat decît în bontul regenerativ, pentru ca apoi să crească paralel atît în regenerat, cît și în bontul regenerativ (262). Cercetări autoradiografice pe același material (1433) au arătat că activitatea catepsinei începe să crească în ziua a 3-a de la amputarea cozii, atingînd maximul în ziua a 5-a. Activitatea este maximă în partea cea mai mobilă a cozii (8—10 mm de la vîrf) și minimă în regiunea ei bazală, prezentînd astfel un gradient descrescînd de la vîrf spre bază. Din ziua a 6-a, catepsina începe să scadă, mai ales în partea bazală a regeneratului. În jurul

Scanned with OKEN Scanner

zilei a 10-a se observă o scădere și în partea apicală, dar blastemul marginal din regiunea centrală a regeneratului mai conține un nivel ridicat de catepsină. În metamorfoză, activitatea catepsinei crește începînd din partea bazală a cozii.

Rezultatele obținute arată rolul morfogen complex jucat de peptidazele intracelulare, în urma punerii în activitate a unui mecanism proteolitic inițial. Acest mecanism este confirmat de înalta concentrație de catepsină în decursul regenerării, concentrația fiind foarte vădită și în procesele dezvoltării embrionare și ale metamorfozei. Concentrația ridicată de catepsină la nivelul regiunii apicale a cozii, care este regiunea cea mai mobilă și cu activitatea metabolică cea mai intensă, indică legătura dintre catepsină și metabolismul regenerativ. Dealtfel, această conexiune este dovedită și de durata lungă a nivelului înalt cateptic în cursul regenerării (1433). Este posibil ca materialul brut necesar sintezei de noi proteine tisulare să provină în urma unei proteolize anticipate, în care catepsina joacă un rol important. Presupunerea este întărită și de faptul că, imediat după intensificarea activității cateptice (262), apare o augmentare a aminoacizilor. Se presupune că în acest proces ar avea loc un transfer de material azotat din bontul regenerativ în regenerat, în urma migrării celulelor bontului în regenerat (la 11—15 zile). Supoziția este confirmată de creșterea azotului total din regenerat pînă în a 11-a zi și de scăderea azotului total din bontul regenerativ între 5 și 15 zile, cantitatea de azot total fiind mai ridicată în regenerat decît în bont pînă la 15 zile (262), (555).

Proteazele alcaline au aceeași evoluție ca și cele acide. În blastemul regenerativ al cozii de triton, enzimele scad imediat după amputare. Se constată apoi o creștere treptată începînd cu ziua a 2-a, cu un maxim atins la 10 zile, după care are loc o scădere cantitativă (2%).

Dipeptidazele, localizate în fracțiunea mitocondrială a citoplasmei (1316), au un rol foarte important în procesele de proteosinteză.

Astfel, în regenerarea cozii și a membrelor de *Triton cristatus*, alanilglicin-dipeptidaza (pH=7,4) are o activitate maximă în decursul proceselor de dediferențiere. Enzima mai prezintă însă un maxim ce corespunde debutului diferențierii, dar numai în blastemul regenerativ. La 7 mm de la suprafața de amputare nu se mai constată modificări ale activității enzimatice (155). De asemenea, enzima este prezentă în cantitate mare în blastem (6—20 zile), urmînd o curbă cantitativă cu maximul la 13 zile (în coadă) sau la 16 zile (în membru), după care diminuează. Acest decalaj este datorat unei mai rapide restituții a cozii față de membru (68).

În regenerarea cozii mormolocilor de *Bufo* are loc aceeași augmentare a enzimei, precedată de o activitate enzimatică intensă (68). Se constată însă că dipeptidazele augmentează mult mai tîrziu (între zilele 7 și 8) (182), (183).

În regenerarea ficatului de șobolan parțial hepatectomizat, dipeptidazele scad net în prima zi, cresc puternic în a 2-a, atingînd nivele cu mult peste valoarea normală, și rămîn constant ridicate pînă în ziua a 7-a (204), (465), (756). În hepatectomia unei jumătăți a lobului stîng, dipeptidazele diminuează în prima zi, augmentează rapid între zilele 2 și 4, se mențin constant ridicate între a 5-a și a 11-a zi și cunosc apoi o nouă augmentare, modestă, pînă în ziua a 14-a (maxim), după care urmează o scădere rapidă între zilele 16 și 17. Dipeptidazele joacă deci un rol în diferențierea morfologică și funcțională a regeneratului hepatic (41).

Scanned with OKEN Scanner

În coada amputată a mormolocilor de *Pelobates fuscus*, regenerarea este însoțită, în tot cursul ei (2—14 zile), de apariția unui nivel înalt de glicinil-dipeptidază, cu un maxim în ziua a 11-a (839).

S-a mai constatat că marginile plăgilor superficiale ale pielii la cobai sînt caracterizate printr-o activitate aminopeptidazică la cîteva ore după intervenție (963).

În regenerarea nervului sciatic la șobolan, se observă o augmentare a dipeptidazelor, cu două maxime (la 5 și la 9 zile), comportamentul acestor enzime depinzînd de modificările particulare ale celulelor tecii Schwann, ale celulelor peri- și epineurale (40).

O primă concluzie a datelor prezentate este faptul că enzimele proteolitice au o activitate superioară în blastemul de regenerare față de cea existentă la nivelul țesuturilor bontului regenerativ.

O a doua concluzie, rezultată din seria cercetărilor efectuate asupra proteazelor, constă în faptul că, în activitatea acestor enzime, există o succesiune legată de fazele regenerării. Este foarte probabil că în regenerare se stabilește o reacție de alarmă consecutivă unei traume, reacție similară cu „sindromul general de adaptare" al lui Selye, sindrom care urmează variatelor forme de stress. Reacția este urmată de o fază regresivă (*R*), caracterizată prin prevalarea fenomenelor de autoliză, dezagregare și dediferențiere, după care intervine o fază progresivă (*P*), caracterizată prin mitoze, agregări de celule, creșterea și diferențierea blastemului (803), (804). Cele două faze prezintă activități metabolice diferite, care se regăsesc dealtfel și în cursul metamorfozei anurelor.

În aceste două faze diferite, proteinazele și dipeptidazele au roluri diferite, primele intervenind în procesele de autoliză, dediferențiere și creștere, iar ultimele în procesele de dediferențiere, creștere și diferențiere. Curba de activitate a acestor enzime este similară în ontogeneză și în regenerare (1314).

Astfel, blastemul de regenerare este caracterizat, în faza *R*, printr-o activitate protează acidă și alcalină, proteazele jucînd un rol important în funcția dezintegrativă necesară preparării materialelor care participă la formarea de noi proteine. S-a constatat că activitatea proteazelor alcaline este precedată de activitatea proteazelor acide.

În ceea ce privește dipeptidazele, ele joacă un rol important în procesele de proteosinteză, deci de morfogeneză și de diferențiere. Este dealtfel demonstrat că evoluția dipeptidazelor urmează fidel evoluția sintezei proteinelor morfogene. Această activitate are loc în faza *P*, atunci cînd proteazele acide și alcaline sînt în scădere. Din aceste date rezultă că există o succesiune strictă a enzimelor proteolitice în cursul regenerării, și anume că activitatea proteazelor alcaline precedă pe cea a proteazelor acide, iar ultimele precedă activitatea dipeptidazelor (182), (183), (1314), (1315). Deci, proteazele acide și dipeptidazele au un rol diferit în procesele regenerative.

Aceste date se bazează pe o serie de experiențe și de observații. Astfel, în blastemul regenerativ al cozii de triton, există o succesiune strictă în activitatea enzimelor proteolitice, maximul activității proteazei alcaline fiind la 10 zile după amputare, al proteazei acide la 11 zile și al dipeptidazelor la 12 zile (68). Fenomenul acesta se regăsește, cu mult mai evident, în regenerarea cozii mormolocilor de *Bufo vulgaris* (68), la care activitatea dipeptidazică atinge un nivel foarte înalt în ziua a 7-a. Cum în acest moment se întîlnește și un maxim în încorporarea ARN, a acidului orotic-6-C^{14} și a me-

Scanned with OKEN Scanner

tioninei C^{14}, se poate trage concluzia interrelației dintre sinteza proteică și activitatea dipeptidazelor (182), (183).

Ordinea strictă a intrării în acțiune a enzimelor proteolitice în procesul regenerativ a fost demonstrată și la nivelul ficatului de șobolan în regenerare. S-a constatat astfel că la acest nivel activitatea protează și cea dipeptidazică au un comportament diferit: proteazele joacă un rol important în procesele de dediferențiere și de multiplicare celulară, avînd o activitate maximă înainte de perioada cu cea mai înaltă frecvență a mitozelor (36—42 ore), pe cînd dipeptidazele au un rol însemnat în diferențierea morfologică și funcțională, intervenind după perioada de maximă frecvență a mitozelor (41), (474), (756).

Dintre proteaze, un rol deosebit de important joacă *colagenazele.* A fost descoperită astfel activitate colagenolitică în membrele anterioare pe cale de regenerare la *Triton viridescens*, activitate care are un maxim în stadiul de dediferențiere al regeneratului și care conduce la degradarea matricei extracelulare, permițînd mobilizarea celulelor (420).

Prin metoda încorporării precursorilor marcați în hialuronat, s-a constatat că, concomitent cu o scădere puternică a încorporării după 10—15 zile de la amputare, activitatea hialuronidazei (HO) devine detectabilă în blastem și persistă, la un nivel înalt, pînă la 40 de zile, adică în decursul diferențierii maxime a sintezei condroitinsulfatului și diferențierii cartilajului (1275). Producerea de colagenază este maximă în blastemul tînăr aproximativ în aceeași perioadă cu sinteza maximă de hialuronat, perioadă în care apare depunerea de fibre de colagen (420).

Din mediul de cultură al țesuturilor membrelor de triton în regenerare s-a izolat o enzimă colagenolitică, cu un pH optim neutru. Cercetările au fost efectuate pe regenerate de 12—18 zile ale membrelor anterioare, cultivate în mediul fiziologic la 37°C. Enzima apare în acest mediu în decursul a 3 zile de cultură. Cu ajutorul ei se poate reduce rapid colagenul mamalian (la 37°C) în peptide dializabile. Enzima este inhibată de EDTA și de cisteină, inhibitori ai sintezei proteice. Avînd în vedere că această enzimă apare în stadiul de dediferențiere și că localizarea ei este în regiunea distală a mugurelui de amputare și a blastemului, rezultă că ea este implicată în eliberarea celulelor precursoare ale blastemului din matricea intercelulară (275). O colagenază activă a putut, dealtfel, să fie obținută și în vindecarea plăgilor la mamifere (419). S-a mai constatat că, în vindecarea plăgilor la mamifere, colagen-prolin-hidroxilaza apare paralel cu sinteza timpurie a colagenului (789).

Producerea de colagenază (275), (420) și de alte hidrolaze (1068) în blastem este legată incontestabil de regenerarea țesuturilor. Faza degradativă este importantă în „eliberarea" celulelor care migrează distal pentru a forma blastemul dediferențiat.

Fosfoproteinfosfataza a fost depistată în regenerarea ficatului de cobai. Enzima augmentează cantitativ pînă la 96 de ore de la hepatectomie, după care revine la normal. Activitatea ei are loc concomitent cu creșterea activității mitotice (1338).

Dintre **polifosfataze**, *adenozintrifosfataza A nucleară* (ATP-aza A) pare să joace un anumit rol în regenerarea ficatului de mamifere. ATP-aza A, care în ficatul normal este cantonată la nivelul membranei nucleare, se regăsește și în nucleoli la nivelul ficatului regenerativ, urcînd la valori considerabile și indicînd creșterea necesităților energetice (339). Totuși, s-a constatat că ATP-aza nu se modifică decît după 72 de ore de la hepatectomia parțială

Scanned with OKEN Scanner

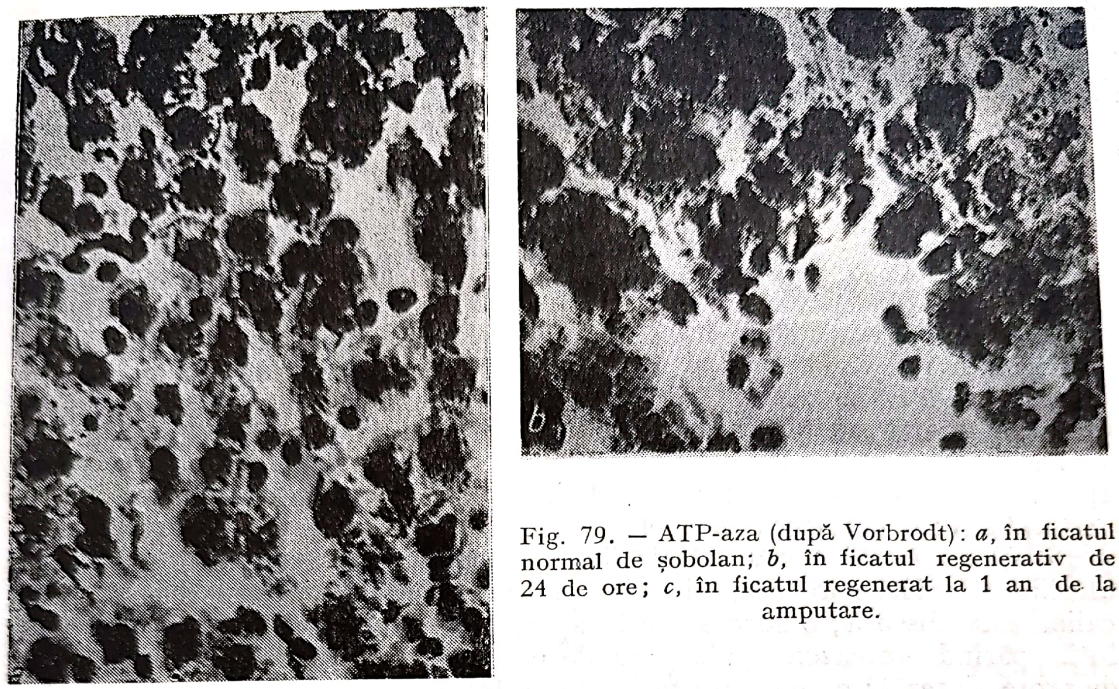


Fig. 79. — ATP-aza (după Vorbrodt): *a*, în ficatul normal de șobolan; *b*, în ficatul regenerativ de 24 de ore; *c*, în ficatul regenerat la 1 an de la amputare.

(1343). Cercetările efectuate pe cale biochimică la 1 an după operație în ficatul hepatectomizat parțial (75% din masa hepatică) mai relevă o accentuare puternică a activității ATP-azice (955) (fig. 79).

Tiaminpirofosfataza augmentează, în cursul regenerării pielii umane, în celulele mezenchimale ale țesutului de granulație (89).

Liazele

Aldolazele prezintă o creștere importantă în nuclei și o scădere remarcabilă în citoplasma hepatocitelor ficatului de șobolan pe cale de regenerare.

Sulfatazele joacă, de asemenea, un rol însemnat în regenerare, fiind augmentate în blastemul de regenerare (45). Astfel, *arilsulfataza C* și *cisteindisulfuraza* sînt augmentate în fibroblastele și în mastocitele țesutului de granulație din regenerarea pielii umane (89).

Izomerazele

Fosfoglucozoizomeraza a fost depistată în țesutul regenerativ al suprafeței articulare la cîine. Se știe că țesutul de granulație care apare în acest caz aderă fie la suprafața articulară, fie la capsula articulară, primul fiind condrogen, iar al doilea nu. Or, în ambele forme ale țesutului de granulație, situația fosfoglucozoizomerazei este aceeași (453).

*

În concluzie, modificările chimice ale țesuturilor regenerative subepidermice sînt diferite de cele ale epidermului regenerativ. Totodată se semnalează unele diferențe chiar între modificările substanțelor chimice din cadrul blastemului de regenerare și ale celor din cadrul țesutului de granulație. Pentru evoluția țesuturilor subepidermice mai pot fi considerate caracteristice următoarele modificări biochimice: augmentarea cantității de glicogen, mai evidentă în țesutul de granulație; augmentarea ADN într-o fază posterioară epitelializării plăgii; augmentarea ARN, în proporție mai mare decît cea a ADN; o puternică proteoliză, urmată de o proteosinteză, îndeosebi a proteinelor cu aminoacizi sulfhidrilici; o augmentare puternică a fosfatazei alcaline și acide, spre deosebire de epiteliul regenerativ, unde fosfataza alcalină este absentă; o succesiune în apariția și în activitatea proteazelor, mai întîi apărînd proteazele acide (faza de proteoliză) și apoi dipeptidazele (faza de proteosinteză); o augmentare a esterazelor nespecifice și a lipazelor în țesutul de granulație; în fine, o augmentare semnificativă a β-glucuronidazei. În general, toate aceste modificări sînt abolite în cursul diferențierii, cînd se constată o scădere remarcabilă a cantității tuturor substanțelor amintite.

În procesul regenerativ se observă și o serie de corelații importante privind acțiunea diferitelor substanțe morfogenetice și energetice.

Există relații care se exprimă printr-o divergență paralelă în cantitatea substanțelor active implicate în regenerare. Astfel citățm cazul relației: dintre ARN și glicogen în regenerarea pielii la șobolan (1414), (1415), (1416) sau la purcei (79), (80); dintre ADN și fosfataza alcalină în regenerarea pielii la șobolan (1414); dintre ADN și ARN în regenerarea pielii la șobolan, relația nefiind atît de evidentă la alte specii de animale; dintre fosfataza alcalină și glicogen, degradarea glicogenului fiind folosită ca sursă energetică; dintre fosfataza alcalină și cea acidă în epiteliul regenerativ; dintre nivelul ridicat al proteazelor acide și degradarea proteinelor.

Există, de asemenea, relații care se exprimă printr-o convergență cantitativă paralelă între substanțele morfogene și energetice. Astfel, în regenerarea membrului anterior la triton, se constată o convergență: între concentrația de metionină, de glutation și de fosfatază alcalină (104), (366), (582), (837); între ADN și glicogen, indicînd scăderea activității metabolice în cazul augmentării celor două substanțe (405), (1414), (1416); între fosfataza alcalină, ARN și proteine, indicînd rolul acestor substanțe în sinteza proteinelor celulare și fibrilare; între ADN, ARN și proteinele cu aminoacizi sulfhidrilici, legate de procesele proliferative și morfogenetice prezente în formarea și în maturarea țesuturilor subepiteliale; între fosfataza alcalină și cea acidă în blastemul evolutiv; între fosfataza alcalină și glicogen, care se întîlnește atunci cînd are loc fosforilarea glicogenului; între catepsină și augmentarea aminoacizilor; între aldolaze și enzimele oxidative în ficatul de șobolan; în fine, între augmentarea dipeptidazelor și sinteza proteinelor.

Scanned with OKEN Scanner

În ceea ce privește degradarea oxidativă și energogeneza, s-a constatat că procesele de regenerare merg paralel cu intensificarea proceselor de degradare și de sinteză, care implică, la rîndul lor, un consum de energie. Or, bilanțul energetic al organismului depinde de scindarea și de resinteza ATP. Astfel, în urma excizării musculare la cobai, în decursul regenerării musculare au loc o importantă scădere a concentrației de ATP și de creatinfosfat, precum și o creștere a concentrației de fosfor anorganic, de acizi nucleici și de acid ascorbic. Scăderea concentrației de ATP se explică prin insuficiența respirației tisulare și prin tulburarea fosforilării oxidative, demonstrînd că regenerarea tisulară este paralelă cu intensificarea proceselor de sinteză, care implică un consum de energie (1442).

Anumite cercetări biochimice, efectuate în urma amputării membrului la *Triton cristatus*, au stabilit variații ale consumului de oxigen în decursul formării blastemului, al debutului și desfășurării diferențierii (946). În faza de dediferențiere a regenerării la vertebratele inferioare, procesul regenerativ este însoțit de o respirație anaerobă, de glicoliză și de creșterea cantitativă a acidului lactic. În stadiul de creștere și de diferențiere se constată însă o respirație aerobă, precum și scăderea glicolizei și a cantității de acid lactic. În primul stadiu se mai observă creșterea proteolizei și scăderea pH-ului mediului intern, pe cînd în al doilea stadiu se evidențiază dominarea proteosintezei și revenirea pH-ului mediului intern la valorile sale normale (920).

Vindecarea plăgilor la șobolani, în sensul creșterii ratei de regenerare a plăgilor craniale față de cele caudale, se desfășoară paralel cu un gradient al respirației endogene și al glicolizei din pielea șobolanului (SZANTO și colab., citați după (1228)). În regenerarea membrelor la *Triturus viridescens*, se constată o creștere a activității shuntului pentozo-fosforic și o augmentare importantă a metabolismului glucidic în decursul procesului de dediferențiere, ceea ce a fost demonstrat și prin creșterea izbitoare a Gl-6-P-DH, ca și prin diminuarea relativă a enzimelor ciclului Krebs. Un produs metabolic important al acestor procese este ribozofosfatul, necesar edificării de acizi nucleici (1429). Dar în acest proces apare o diferență semnificativă între activitatea metabolică a scufiței epidermice apicale și restul epidermului normal.

Desfășurarea regenerării normale a membrului de *Triton cristatus* este legată de creșterea consumului de oxigen pînă în stadiul formării blastemului, după care urmează o scădere a acestuia în perioada de creștere și de diferențiere (946).

În cursul regenerării ficatului de șobolan are loc o creștere a nivelului respirației endogene și a glicolizei, cu diminuarea rezervelor de glicogen hepatic. Consumul de oxigen se intensifică apreciabil față de normal, atingînd un maxim la 2 zile după hepatectomia parțială, după care scade pînă la 10 zile. Paralel, în primele 10 zile se constată o creștere a activității glicolitice anaerobe, revenirea la valorile normale avînd loc la 14 zile după operație. Glicoliza anaerobă rămîne însă, în acest interval, nemodificată. În primele ore ale regenerării, se observă o inhibiție netă a respirației și a enzimelor ciclului acidului citric, în timp ce activitatea mitotică este foarte redusă. Ulterior, se remarcă o creștere impresionantă a glicolizei totale în nucleii hepatocitelor și o scădere identică în citoplasma lor. Glicoliza anaerobă a homogenatului de ficat hepatectomizat parțial este mai ridicată, la 2 și la 48 de ore după hepatectomie, față de țesutul martor. În cursul regenerării hepatice, mai are loc o evoluție fazică a potențialului redox, diminuat față de normal.

Scanned with OKEN Scanner

Acest potențial înregistrează un minim la 48 de ore după hepatectomie, cu reveniri la normal în ziua a 14-a. Se demonstrează astfel că în procesele proliferative rapide, controlate fiziologic, nivelul activității glicolitice este reglat în funcție de necesitățile impuse de procesele de sinteză ale constituenților plastici, fiind cunoscut că activitatea regenerativă maximă are loc în intervalul de 2—5 zile după hepatectomie. Urmărindu-se evoluția Gl-6-P-DH, enzimă cu rol fundamental în desfășurarea ciclului pentozo-fosforic, s-a constatat că activitatea enzimei se intensifică la 24 de ore după intervenție. Intensificarea merge progresiv, accentuîndu-se la 48 de ore și atingînd un maxim la 5 zile. În a 14-a zi, apare o tendință de diminuare. Prin urmare, ciclul pentozo-fosforic se intensifică apreciabil în intervalul de 2—5 zile după hepatectomie, perioadă ce corespunde unei activități regenerative maxime. Activitatea căii pentozo-fosforice este deci în raport proporțional cu ritmul de proliferare (348), (417), (791), (792), (1112).

Cercetări cantitative privind metabolismul hepatic într-un stadiu foarte tardiv, la 12 luni, după hepatectomia parțială a 75% din masa hepatică la șobolan au arătat o diminuare a activității funcționale a mitocondriilor, exprimată prin reducerea consumului de oxigen, ca și prin scăderea ATP-azei și a CO (719).

La studiul mecanismelor biochimice ale regenerării merită să adăugăm o completare sintetică privind regenerarea ficatului la șobolan.

Astfel, modificările biochimice care au loc în ficatul regenerativ de șobolan depind de masa hepatică extirpată (947), (950). Atunci cînd se extirpă o cantitate mai mare de țesut hepatic (60—75%), modificările sînt mai evidente, pe cînd în cazul cînd se extirpă o cantitate mai mică (20—25%), modificările sînt mai puțin evidente, ele avînd însă loc în același sens. Modificările biochimice apărute în urma hepatectomiei parțiale relevă anumite mecanisme care stau la baza succesiunii celor două faze predominante în regenerarea hepatică: faza hiperplazică și faza hipertrofică.

În faza hiperplazică, se constată o augmentare a nivelului respirației endogene, a glicolizei, a nivelului lipidelor, a acizilor nucleici, a proteinelor globale și a proteinelor cu aminoacizi -SH, a fosfatazei alcaline, a activității enzimelor glucozo-6-fosfatază, glucozo-6-fosfatdehidrogenază, izocitricdehidrogenază, 5′-nucleotidază și β-glucuronidază, precum și o diminuare a glicogenului, a activității enzimelor ciclului Krebs și a dipeptidazelor.

În etapa hipertrofică apare un tablou invers, constînd în augmentarea glicogenului, scăderea lipidelor, diminuarea acizilor nucleici și a proteinelor -SH (proteinele totale continuînd să augmenteze) și în intensificarea activității enzimelor ciclului Krebs și a dipeptidazelor.

Modificările biochimice din ficatul regenerativ se regăsesc și la un interval foarte îndepărtat de la operație, cu toate că aspectul morfologic al ficatului este restabilit. Astfel, în extirpările a 25% din masa hepatică, la 1 an după hepatectomie se observă o intensificare a cantității acizilor nucleici și proteinelor, o infiltrație grasă și o incapacitate glicogenopexică a anumitor zone parenchimale, o hipertrofie a țesutului conjunctiv perivascular și a fibrelor de reticulină. De asemenea, se remarcă o creștere a numărului de celule binucleate și un polimorfism al populației celulare. Se pare deci că este vorba de o accelerare a evoluției ontogenetice a ficatului regenerativ, datorită unui fenomen de îmbătrînire mai rapidă, caracterizat prin hipertrofia țesutului

Scanned with OKEN Scanner

conjunctiv, a fibrelor de reticulină, prin infiltrația grasă și prin incapacitatea glicogenopexică a unor regiuni parenchimatoase (953).

În extirparea a 75% din masa hepatică, la 1 an după hepatectomia parțială se constată o diminuare a activității funcționale a mitocondriilor, exprimată prin reducerea consumului de oxigen, prin scăderea ATP-azei și a CO în cercetările biochimice, paralel cu o accentuare puternică a ATP-azei, a 5'-nucleotidazei și a ribozo-5-fosfatazei; totodată se evidențiază o accentuare slabă a glucozo-6-fosfatazei, o scădere slabă a succindehidrogenazei, a malicdehidrogenazei și a $NADH_2$-diaforazei, o slăbire puternică a glutamatdehidrogenazei, a β-dehidrogenazei, a glucozo-6-fosfatdehidrogenazei și o stare de nemodificare a izocitricdehidrogenazei și a lactatdehidrogenazei (pe cale histochimică). Se pare că, în acest caz, este vorba de o accentuare a activității glicolizei anaerobe și a transferului de electroni pe calea lanțului respirator. Incapacitatea glicogenopexică și supraîncărcarea grasă sînt prezente datorită, s-ar părea, conversiunii glucozei în acizi grași (955).

Bazele nervoase ale regenerării

Începînd cu prima decadă a secolului nostru, atenția acelor cercetători care s-au ocupat de mecanismele proceselor regenerative a fost concentrată asupra influenței pe care o pot avea sistemul nervos central și cel periferic asupra proceselor de regenerare. Cercetările, deseori contradictorii, dat fiind că au fost efectuate în condiții foarte diferite, au condus totuși la concluzia că sistemul nervos are un rol deosebit în procesul de regenerare și de vindecare a plăgilor.

Ținînd seamă însă de condițiile în care excitarea sau inhibarea acțiunii sistemului nervos influențează regenerarea, s-au putut schița, în urma efectuării a diferite intervenții experimentale pe diferite clase de vertebrate, o serie de concluzii preliminare.

Astfel, la pești, denervarea împiedică regenerarea mustăților, procesul regenerativ rezumîndu-se doar la epitelializarea plăgii. La nivelul mustății amputate și denervate, țesuturile ei se resorb și epidermul se subțiază, regenerarea neavînd loc (396), (574). S-au mai constatat, de asemenea, schimbări regresive în țesuturile înotătoarelor după amputarea și denervarea acestor organe la *Fundulus heteroclitus* (410).

La amfibiile urodele adulte, cercetări mai vechi (140), (694), (695), (696) păreau să indice că distrugerea măduvei lombare sau a centrilor motori din măduvă afectați extremității posterioare nu ar împiedica regenerarea normală a membrelor la triton. Printre aceste cercetări, unele arătau că extirparea măduvei sacrate sau lombare la *Ambystoma* nu numai că nu împiedică regenerarea normală a membrului, ci, dimpotrivă, o accelerează (1426). Studii mai recente au infirmat însă acest punct de vedere. S-a demonstrat că rezecția măduvei spinării aduce după sine, la triton, o întîrziere în formarea blastemului, iar membrul regenerat este mai redus în volum (82). De asemenea, KORTNÎI (citat după (730)) a arătat că despinalizarea după amputarea membrului grăbește maturizarea țesutului conjunctiv și predispune la scleroza transplantului muscular. PREDA și colaboratorii săi au stabilit că amputarea măduvei spinării în dreptul segmentului D_6—D_7 la *Triton cristatus*

Scanned with OKEN Scanner

conduce la o desfășurare lentă a procesului regenerativ al membrului posterior, legată de un consum mai scăzut de oxigen (946). Acest fapt presupune că regenerarea, care are loc în condițiile lezării măduvei, se face probabil în condiții anaerobe, de unde desfășurarea mai lentă a procesului regenerativ.

La urodele, despinalizarea după amputarea cozii conduce la formarea unui organ caudiform, lipsit de musculatură metamerică și de cartilaje vertebrale (513), (595).

Suplimentarea inervației locale în condițiile despinalizării nu poate însă înlocui rolul măduvei. Se pare deci că măduva are o acțiune specifică în regenerarea cozii. Specificității inductoare a cozii îi corespunde și o specificitate organoformatoare a zonelor din teritoriul cozii.

Unele cercetări mai vechi, efectuate pe *Ambystoma tigrinum*, au arătat, în ceea ce privește rolul ganglionilor spinali, că extirparea lor nu influențează procesul de regenerare a membrelor (1425). Totuși, mai recent s-a constatat că această extirpare are o influență hotărîtoare la triton, întîrziind mersul procesului regenerativ (696). S-a stabilit, de asemenea, că regenerarea unui membru denervat de triton este asigurată prin auto- sau homoplantarea de ganglioni spinali în acest membru, cu toate că ganglionii grefați n-au nici o legătură cu sistemul nervos central. În absența oricăror elemente nervoase, ganglionii spinali, deci celulele nervoase, asigură creșterea și diferențierea regeneratului de membru, care involuează în absența lor (39). Prezența ganglionilor spinali în bontul de coadă despinalizată nu asigură însă regenerarea cozii, așa cum se întîmplă în cazul membrului, deși ganglionii spinali rămași intacți trimit o inervație abundentă spre suprafața de secțiune (576).

Privitor la rolul creierului în procesele regenerative, s-a constatat că separarea creierului anterior de cel intermediar, prin amputarea creierului anterior, nu are nici o influență specială asupra proceselor morfogenetice și histochimice inerente procesului regenerativ în primele faze ale regenerării cozii amputate de triton (938), (942). În acest caz, consumul de oxigen rămîne scăzut, regenerarea care are loc în condițiile lezării sistemului nervos făcîndu-se probabil pe cale anaerobiotică, de unde desfășurarea mai lentă a procesului regenerativ (946).

Multiple experiențe au căutat să dovedească rolul nervilor periferici în desfășurarea procesului regenerativ. Cercetări mai vechi păreau să arate că secționarea plexului brahial sau lombar (1054) sau a nervului sciatic (696) nu influențează mersul regenerării membrului amputat. Aceste cercetări au fost însă infirmate ulterior, stabilindu-se că nervii periferici au un rol deosebit de important în dediferențierea, creșterea și diferențierea regeneratului. Astfel, Weiss (1375), (1383) a demonstrat, mai de mult, că secționarea plexului brahial, înainte sau concomitent cu amputarea membrului anterior de triton, împiedică creșterea regeneratului, dar permite formarea și diferențierea blastemului. Totuși, majoritatea autorilor contemporani consideră că denervarea precoce a organismelor pe cale de regenerare la urodele conduce la împiedicarea regenerării sau la procese regenerative anormale, denervarea precoce producînd blocarea desfășurării proceselor de dediferențiere, formarea blastemului și diferențierea lui.

Astfel, în amputarea membrului posterior la triton, amputare însoțită de denervarea sciatică respectivă, epitelializarea se desfășoară normal, încheindu-se în zilele 3—5 de la amputare. La această dată se acumulează însă sub epiteliu un mare număr de celule hematogene, iar celulele mezenchimale

Scanned with OKEN Scanner

sînt absente. Dediferențierea celulelor bontului de amputare este minusculă și, în consecință, blastemul nu se formează. În aceste condiții, regenerarea membrului nu are loc (150), (763), (868), (1089), (1132). Cu toate că creșterea regeneratului este detectabilă la 2 zile după amputare și devine evidentă la 4 zile, în zilele următoare se constată atrofierea mugurelui regenerativ (150), (1143).

KADILOV și OVSEPIAN (citați după (730)) au constatat de asemenea că întreruperea căilor nervoase eferente ale unui teritoriu cutanat exercită un efect inhibitor asupra maturării elementelor conjunctive, ceea ce se manifestă și prin tulburări histochimice pronunțate în zona respectivă. KUDOKOȚEV (citat după (730)) a arătat că regenerarea organotipică este condiționată de păstrarea legăturilor nervoase.

Se pare însă că momentul în care are loc denervarea este de o deosebită importanță în ceea ce privește realizarea regenerării. Astfel, la membrul anterior de triton, dacă denervarea se face înainte de ziua a 13-a a regenerării, deci în momentul în care regenerarea a fost inițiată, creșterea ulterioară în volum și lungime, precum și diferențierea regeneratului sînt suprimate. În acest caz, tînărul regenerat se atrofiază și se resoarbe lent, blastemul fiind convertit în țesut conjunctiv, iar epidermul supraiacent pierzînd aspectul său regenerativ (1143). Deci, dacă nervul este suprimat în acest stadiu sau într-un stadiu premergător, regenerarea nu are loc.

Denervarea în stadiul de mugure tînăr este semnalată și prin schimbări microscopice. Astfel, la 10 zile după amputare, numărul de pături celulare în epiteliu descrește, ceea ce concordă cu formarea patului fibrocelular. Acest proces este absent în regenerarea normală, unde grosimea epiteliului apical persistă un timp mai îndelungat și unde se constată formarea gradată a unei membrane bazale, pierderea uniformității relative a celulelor blastemale și creșterea țesutului conjunctiv matriceal al blastemului (146), (1154).

Cercetări electronomicroscopice au stabilit că, la tinerele regenerate ale membrului anterior de triton, au loc, după denervare, modificări lente — consecutive unor modificări biochimice — ale infrastructurii celulare (fig. 80—84). În zilele 3—4 după denervare (150) se constată că proporțiile relative ale tipurilor de celule blastemale se schimbă. Astfel, celulele blastemale comune, care conțin un reticul endoplasmatic granular și care formează populația dominantă a regeneratului normal tînăr, diminuează puternic (17—47%), fiind înlocuite, în parte, cu alte tipuri noi de celule, rare în regenerarea normală, și anume *celulele fagocitare*, care derivă din celulele Schwann și care rămîn numeric constante, *celulele vacuolare* și *celulele palide*, al căror număr crește foarte mult. Aceste celule au o citoplasmă luminoasă, iar reticulul lor este mai puțin extensiv.

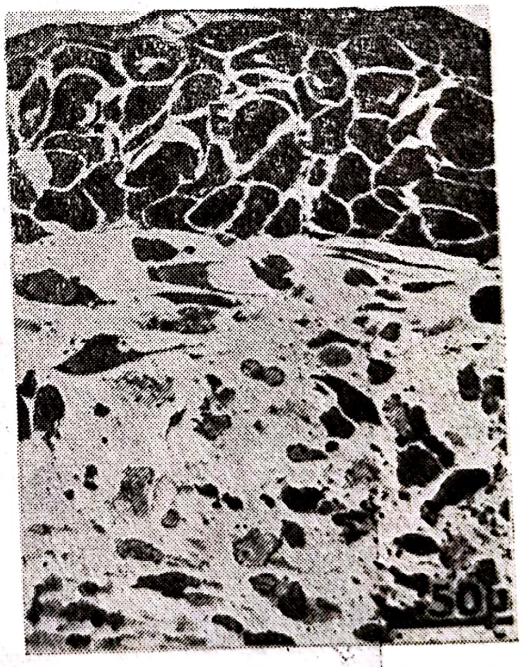


Fig. 80. — Regenerat în stadiul moderat-timpuriu de primordiu al membrului anterior de *Triturus*, după denervare. Microscopie optică (după Bryant, Fyfe și Singer).
E, epiderm.

Fig. 81. — Electronomicroscopie a unei celule vacuolare din blastemul denervat al membrului anterior de *Triturus* în stadiul moderat-timpuriu de primordiu. Denervare cu 8 zile înainte de recoltare (după Bryant, Fyfe și Singer).

V, vacuole.

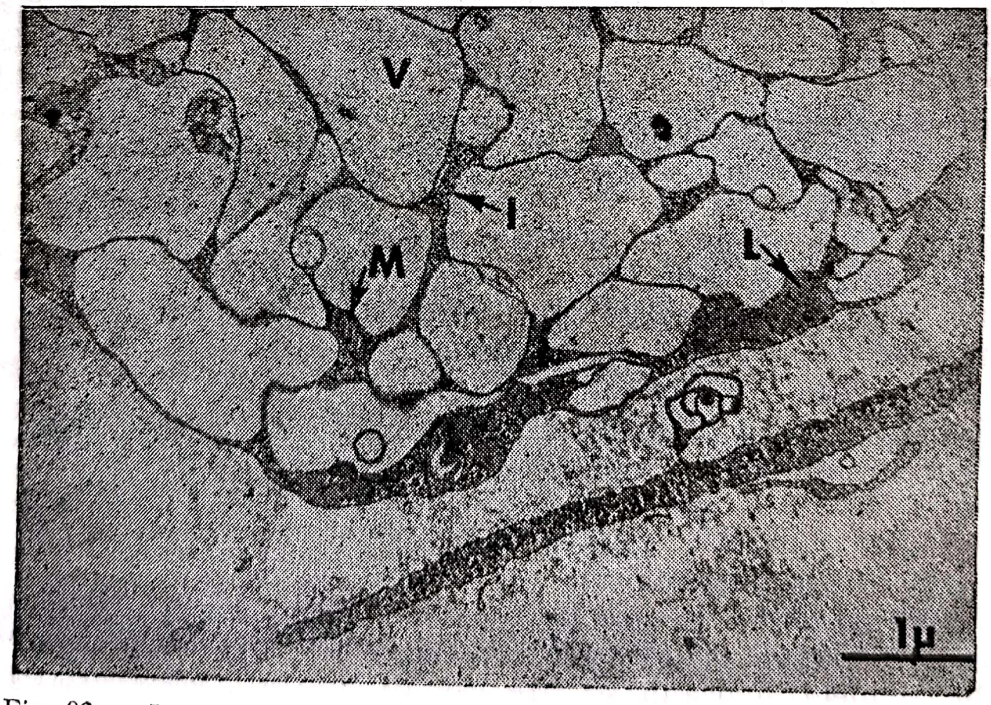


Fig. 82. — Imagine a unei porțiuni dintr-o celulă vacuolară din blastemul denervat al membrului anterior de *Triturus* în stadiul moderat-timpuriu de primordiu. Denervare cu 9 zile înainte de recoltare (după Bryant, Fyfe și Singer).

I, insule de citoplasmă; *L*, picături de grăsime; *M*, mitocondrie; *V*, vacuole.

Scanned with OKEN Scanner

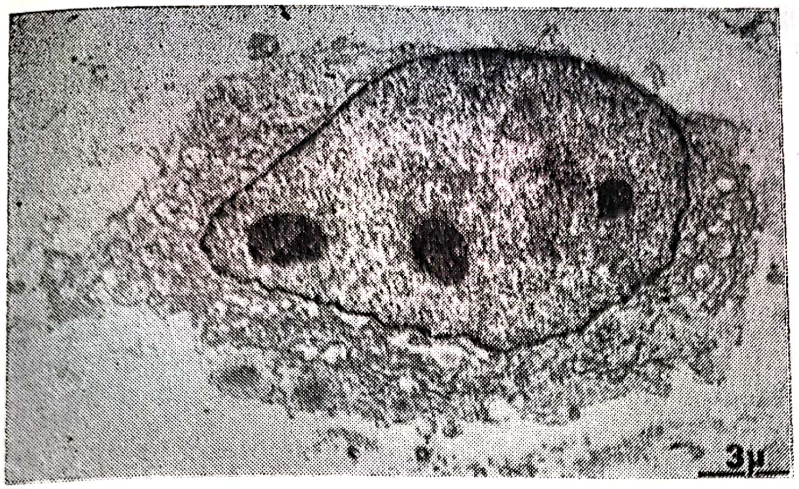


Fig. 83. — Electronomicroscopie a unei celule palide dintr-un regenerat denervat cu 3 zile mai înainte (după Bryant, Fyfe și Singer).

Fig. 84. — Imagine a unei celule palide a blastemului denervat cu 8 zile mai înainte (după Bryant, Fyfe și Singer).
N, nucleu; săgețile indică filamentele citoplasmatice.

Se mai constată că membrana adepidermală este formată și distinctă, astfel încît puține prelungiri epidermale pătrund în spațiul subiacent. Aproape de această membrană, precum și între celulele blastemale, apar mănunchiuri de fibre colagene abundente.

Este posibil ca denervarea să producă degenerarea celulelor blastemale comune, celulele palide și cele vacuolare reprezentînd formele de degenerare ale celulelor blastemale comune.

Nervii apar deci ca un factor important în menținerea unui mare număr de celule blastemale comune, număr care descrește în denervare în urma unei posibile transformări morfologice (150), (287).

Schimbările microscopice și cele inframicroscopice, evidente în denervarea membrelor de triton pe cale de regenerare, sînt precedate de schimbări biochimice, activitatea de sinteză a blastemului apărînd din prima zi după denervare (274), (647). Astfel, regenerarea, care se realizează în anumite condiții ale denervării sciaticului, este însoțită de o slabă creștere în formarea blastemului și de un consum scăzut de oxigen, ceea ce demonstrează că are loc în condiții anaerobiotice, de unde desfășurarea mai lentă a procesului regenerativ (946). Pe de altă parte, la nivelul regeneratului total, nivelul aminoacizilor marcați este redus în primele 10 ore după denervare, iar leucina marcată la 48 de ore (647). Cercetări electronomicroscopice, care au sugerat că cea mai mare

Scanned with OKEN Scanner

parte a sintezei proteinelor în blastem este efectuată de celulele blastemale comune, conținînd mult reticul endoplasmatic rugos, arată că această activitate este redusă prin denervare (150). În fine, s-a mai constatat (1135), în cursul fazelor timpurii ale regenerării, o augmentare a cantității de acetilcolină, cantitate care diminuează înainte de începutul diferențierii, ceea ce ar indica o legătură cu acțiunea trofică a nervilor în procesul regenerativ. Colinesteraza, foarte diminuată în această perioadă, augmentează înainte de histogeneza regenerativă și crește puternic atunci cînd mușchii și nervii devin funcționali.

Denervarea, efectuată după a 13-a zi a regenerării, permite însă creșterea în lungime a regeneratului, mitozele fiind prezente, dar în număr redus. Deși creșterea în volum a membrelor rămîne blocată, diferențierea și morfogeneza regeneratului au loc (1143).

Rolul nervilor în desfășurarea procesului regenerativ a fost dovedit și pe alte căi. Astfel, denervarea prin folosirea colchicinei împiedică regenerarea membrelor la triton (1147). Suplimentarea de inervație favorizează însă procesul regenerativ (1231). În acest ultim caz, ca și în cel al denervării parțiale, se evidențiază o corelație între numărul fibrelor nervoase ce inervează suprafața de amputație și capacitatea de creștere a regeneratului (102), (1152), (1322), (1324). S-a constatat că este necesar un anumit prag al cantității de fibre nervoase pentru a se putea realiza o agregare blastemală și deci o desăvîrșire a regenerării, procesul necesitînd mai degrabă o cantitate adecvată de fibre nervoase intacte decît un anumit tip de nervi (1126), (1127), (1132), (1144), (1322), (1324).

S-a mai putut realiza formarea supranumerară de membre la triton, prin deviația nervilor membrelor sub mușchii pieptului, mușchi traumatizați în prealabil. În acest caz se formează un blastem, ale cărui celule derivă din celulele musculare dediferențiate (100). Alte experiențe (694), (695), (696) au demonstrat că, prin secționarea nervului sciatic și prin grefarea bontului său distal sub pielea spatelui de triton, se poate obține formarea unei labe suplimentare acolo unde capătul nervului sciatic deviat vine în contact cu pielea. Această experiență probează că: 1) celulele pielii spatelui sînt atît de puțin diferențiate, încît pot reveni complet la starea embrionară; 2) centrii și conductorii nervoși sînt cei care desăvîrșesc opera organizatoare în așa fel încît o simplă deplasare a unui astfel de conductor permite dezvoltarea organului căruia îi este afectat în altă regiune decît cea normală (într-un teritoriu morfogenetic neutru). Pe de altă parte, devierea nervilor membrului în regiunea bazală a cozii conduce la formarea de apendice caudiforme supranumerare (115), (436), (440), (443), (595). În fine, tot la *Triton viridescens*, bontul unui membru denervat și amputat, acoperit însă printr-o grefă de epiteliu ce provine de la un alt membru și inervat printr-un nerv sciatic deviat spre grefă, dă naștere unui blastem care se dezvoltă ca un membru complet (1286).

Cercetările privind rolul sistemului nervos în regenerarea organelor externe ale larvelor de amfibii urodele au adus de asemenea prețioase contribuții la studiul mecanismelor regenerării.

Astfel, la embrionii de *Cynops orientalis* lipsiți de sistem nervos central, în urma extirpării totale a plăcii neurale, se constată totuși o regenerare completă a membrelor amputate la 50 de zile după amputare (194).

Scanned with OKEN Scanner

Prezența ganglionilor spinali în condițiile despinalizării și ale denervării nu permite inducția regeneratului de membru la larvele de salamandră și de triton (595), (596), (597), ceea ce vine în contradicție cu rezultatele obținute de KAMRIN și SINGER la tritonul adult (576). De asemenea, grefele de telencefal nu asigură regenerarea completă a cozii demielinizate (392), (393).

Cercetări mai vechi pledau în favoarea faptului că extirparea măduvei lombo-sacrate la larvele de *Ambystoma tigrinum* nu afectează regenerarea membrelor posterioare (1425). Aceste cercetări au fost însă infirmate de observații mai recente. S-a constatat că despinalizarea membrelor amputate ale larvelor de *Ambystoma* conduce la formarea unui apendice, alcătuit doar dintr-un ax cartilaginos învelit de epiteliu (511). S-a mai stabilit că membrele amputate ale larvelor de *Ambystoma*, transplantate în alte regiuni ale unei gazde adulte, unde sînt lipsite de legătura lor cu măduva spinării, nu regenerează (162), (785), (1256), (1258).

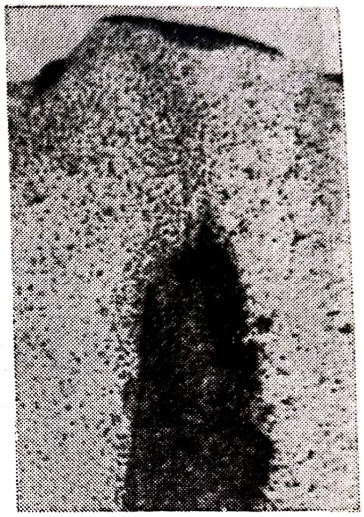


Fig. 85. — Regenerat de coadă de mormoloc de *Ambystoma* de 11 zile, la care măduva spinării a fost distrusă în partea ei distală. Se observă că regenerarea cozii este complet inhibată (după Roguski).

Distrugerea măduvei terminale la larvele de *Ambystoma*, prin despinalizare combinată cu amputarea cozii, conduce, la 15 zile după amputare, la formarea unui apendice caudiform, constituit dintr-un blastem abortiv nediferențiat, în care se dezvoltă un ax cartilaginos (392), (509), (510), (512), (513), (692), (1006) (fig. 85). La 7 luni după amputarea cozii, atunci cînd măduva spinării crește și pătrunde în formațiunea amintită, se constată și debutul regenerării unor organe axiale ale cozii (1006).

Secționarea regiunii mijlocii a măduvei la axolotl nu produce nici o modificare în stadiile incipiente ale regenerării, dar după a 6-a zi de la amputare se constată că, în timp ce regenerarea epiteliului caudal devine tot mai lentă, ritmul formării țesuturilor conjunctive devine tot mai rapid. Totuși, regenerarea completă a cozii nu are loc (392).

Cercetări efectuate pe larvele de *Salamandra salamandra* (595), (596), (597) (fig. 86) au arătat că, în absența acțiunii măduvei spinării, în urma unor amputări și despinalizări ale cozii *in situ*, precum și în urma unor autogrefe pe spate ale unor fragmente de coadă despinalizată, rata regenerării cozii despinalizate este redusă la jumătate față de cea a cozii spinalizate, ceea ce se exprimă printr-o importantă reducere a volumului regeneratului. Regeneratul nu este o coadă propriu-zisă, ci doar o structură caudiformă *(tail-like)* în care lipsește orice formațiune scheletică, musculară, ganglionară sau medulară, persistînd doar formarea epiteliului și a țesutului conjunctiv (fig. 87). În cazul cînd coada larvei de salamandră este amputată doar pe jumătate prin secțiune transversală, se constată că jumătatea restantă despinalizată regenerează structuri atipice, lipsite de mușchi și de schelet (595). Implantarea de țesut cerebral sau de ganglioni spinali în cozile amputate și despinalizate nu conduce la o regenerare a cozii (392), (393), (596) (fig. 88 și 89).

Scanned with OKEN Scanner

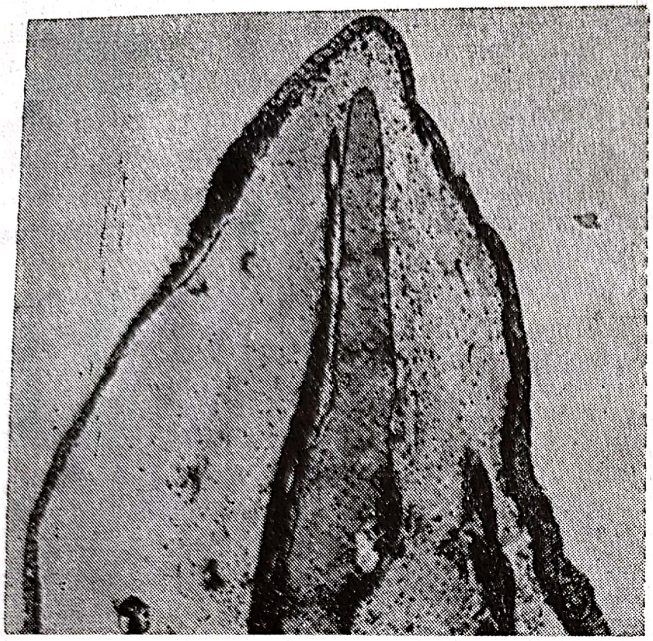


Fig. 86. — Regenerat normal de coadă de larvă de salamandră (după Kiortsis și Droin).

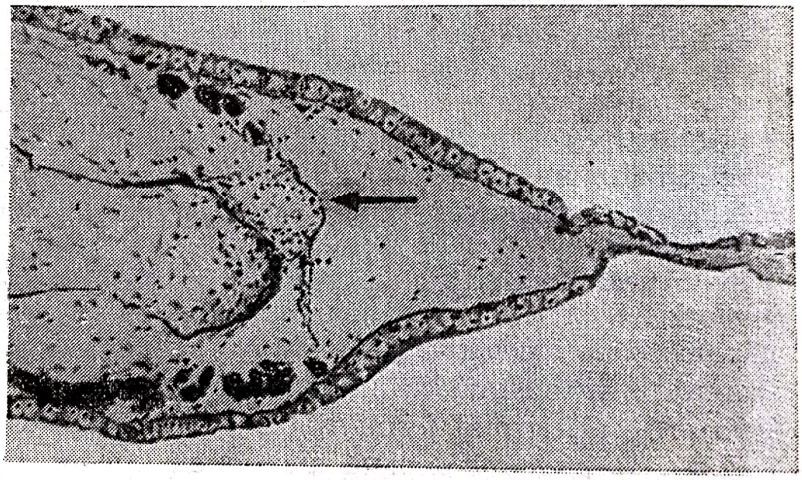


Fig. 87. — Bont caudal regenerativ al cozii despinalizate și regenerate. Regenerat *tail-like*. Se vede frontiera fibroasă dintre țesuturile vechi și regeneratul mezenchimatos (după Kiortsis și Droin). Săgeata arată cartilajul de reparație.

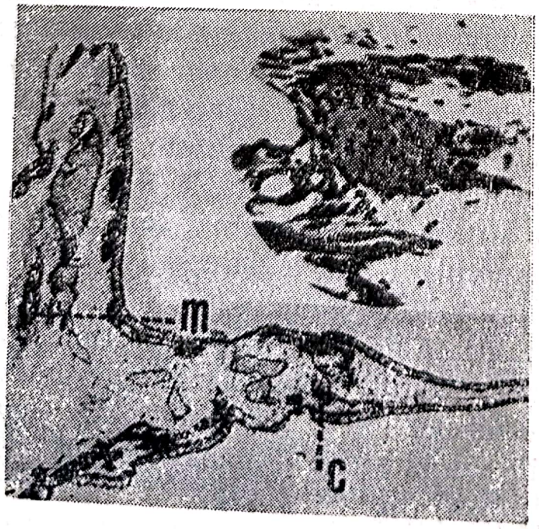


Fig. 88. — Transplant de creier în coada despinalizată a larvei de salamandră. Se observă formarea cozii laterale (după Kiortsis și Drcin).
C, creier; *m*, măduva spinării.

Toate aceste experienţe arată rolul măduvei în diferenţierea ţesuturilor regenerative, constatîndu-se că singură diferenţierea cartilajului axial nu este afectată prin despinalizare (510).

Cercetări mai vechi (461), (468) susţineau că membrele mormolocilor de urodele sînt capabile de a regenera în condiţiile denervării.

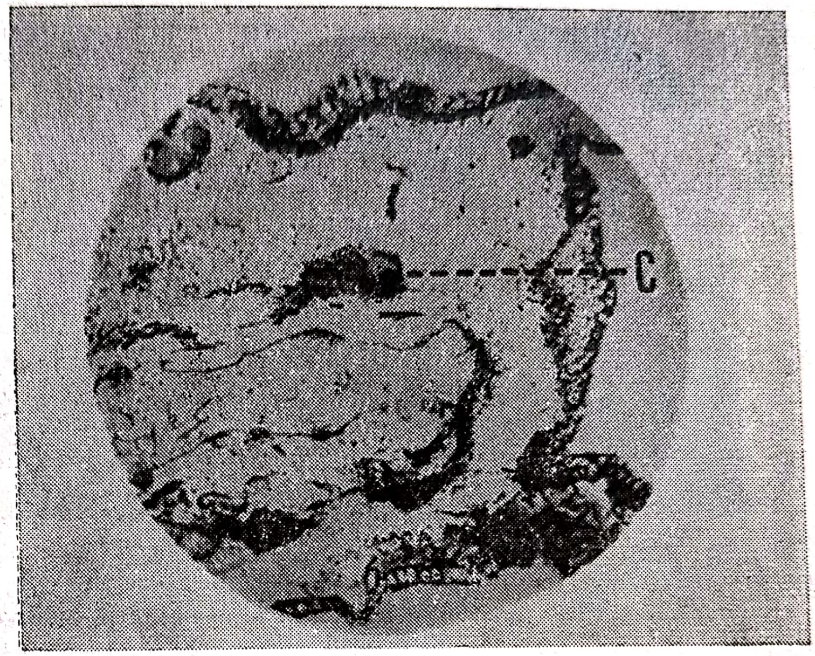


Fig. 89. — Bont de coadă despinalizat cu grefă de creier (*c*) (după Kiortsis şi Droin).

Cercetări mai recente au infirmat însă aceste observaţii. S-a constatat că, la salamandră, denervarea membrelor amputate ale larvelor nu permite formarea scufiţei apicale, agregarea celulelor blastemale şi regenerarea membrelor (1256). La larvele de *Ambystoma*, denervarea membrelor anterioare amputate duce la o inhibiţie a regenerării şi la o regresiune excesivă a bontului amputat, fără a produce însă modificări în formarea blastemului şi în diferenţierea morfologică (164), (166), (578), (1048), (1077), (1078), (1082), (1132), (1438), (1439), (1440). Totuşi, procesul este mai subtil. Dacă denervarea, efectuată prin secţionarea nervilor brahiali, se face înainte de formarea blastemului, are loc o regresiune excesivă a bontului amputat, blastemul din ziua a 6-a fiind în special reactiv la denervare (578), (1078). Dacă denervarea se efectuează în ziua a 9-a de la amputare, atunci cînd blastemul este format, nu se constată nici o regresiune a bontului amputat (164), (166). Aceasta se poate explica prin faptul că se observă o descreştere a numărului de mitoze la 24 de ore de la amputare şi o creştere puternică a mitozelor începînd cu ziua a 6-a, creştere urmată apoi de restabilirea numărului de mitoze în stadiile mai tardive (1438), (1439), (1440).

Efectul de inhibare a procesului regenerativ a fost obţinut şi prin demielinizarea fibrelor nervoase la nivelul membrului amputat al larvelor de *Ambystoma* (509), (510), (511), (512), (513).

Unele experienţe au stabilit, în cazul regrefării membrelor amputate ale larvelor de urodele, formarea regenerativă de fibre nervoase, care pătrund în epiteliul plăgii şi permit regenerarea, ceea ce dovedeşte acţiunea nervilor la nivel local (triton (1129); *Ambystoma* (1258)).

Scanned with OKEN Scanner

Transplantarea homoplastică a membrelor anterioare amputate ale larvelor de *Ambystoma opacum* împreună cu un segment al măduvei spinării, urmată de ablația măduvei gazdei situate sub deplant și de secționarea nervilor spinali de deasupra membrelor, face ca transplantul să-și mențină capacitatea regenerativă atunci cînd este suplimentat prin nervii segmentului homoplastic deplantat al măduvei (692) (fig. 90).

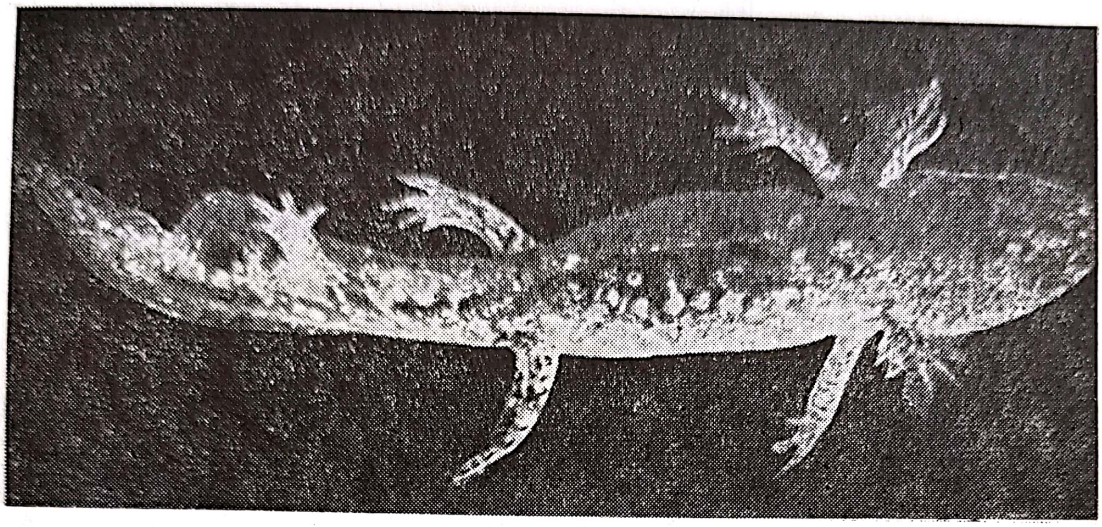


Fig. 90. — Larvă de *Ambystoma* la 3 săptămîni după transplantarea unui membru anterior și a unui segment al măduvei spinării în înotătoarea dorsală a unei gazde la care au fost efectuate mai înainte ablația măduvei spinării și secționarea nervilor liniei laterale (după Liversage).

Ca un fapt curios s-a semnalat că, în cazul organismelor embrionare, regenerarea membrelor de *Ambystoma* poate avea loc cînd amputarea lor se face în stadiile ontogenetice precoce, în care lipsesc fibrele nervoase *(larve aneurogene)*. Membrele larvelor aneurogene de urodele sînt deci, în ceea ce privește regenerarea lor, complet independente de inervație, în contrast cu dependența nervoasă a regenerării, care nu are loc atunci cînd amputarea și denervarea se fac după stadiul în care apar fibrele nervoase (259), (404), (461), (464), (799), (1106), (1126), (1132), (1134), (1267), (1438), (1439), (1440), (1441).

În aceeași ordine s-a constatat că membrele amputate și denervate ale mormolocilor mai înaintați în vîrstă care nu regenerează (1080) pot totuși regenera cînd sînt transplantate în regiunea capului înainte ca fibrele nervoase să invadeze această arie (892).

Este știut că organele periferice ale amfibiilor anure adulte nu regenerează în urma amputării, cu excepția amfibiilor *Xenopus laevis*, *Alytes obstetricans* și *Hymenochirus*. La cele din urmă, care fac parte din familia *Pipidae*, cel mai primitiv și mai nespecializat grup de anure, membrele pot regenera chiar după metamorfoză. Membrele acestor broaște pot regenera și în stare adultă, dar regeneratul diferă considerabil, ca structură, de membrul normal (62), (252), (354), (389), (417), (1020), (1141), (1152), (1162).

Unele experiențe mai vechi privind extirparea măduvei sacrate, lombare și a ganglionilor spinali la *Alytes obstetricans*, amfibian care are capacitatea de regenerare a membrelor în stare adultă, au arătat că această extirpare nu influențează regenerarea membrelor (1425).

Scanned with OKEN Scanner

Excizia telencefalului nu influențează mersul regenerării membrelor posterioare ale broscuțelor de *Xenopus* imediat după metamorfoză. În schimb, extirparea concomitentă a telencefalului și a diencefalului inhibă imediat după metamorfoză creșterea membrelor la *Xenopus*, dar formarea blastemului și diferențierea regeneratului decurg normal (559). În fine, extirparea mezencefalului la *Rana temporaria* produce modificări în regenerarea țesutului muscular lezat: procesele regenerative se realizează disarmonic, procesele distructive durează un timp mai îndelungat, celulele mioblastice apar în număr mai mare decît la martor și în mod dezordonat, iar regenerarea musculară se face mai lent (612).

Denervarea totală a nervilor periferici inhibă complet regenerarea membrelor la *Xenopus* în stadiul postmetamorfotic (605). Membrele de *Xenopus* denervate, în stadiul postmetamorfotic, nu regenerează decît în prezența unei suplimentări nervoase, prin transplantarea nervului sciatic din partea opusă a corpului, iar suplimentarea nervoasă afectează talia și forma regeneratului, ceea ce depinde de numărul fibrelor nervoase suplimentare. Regenerarea, în urma suplimentării nervoase, diferă considerabil ca structură de cea normală. Alături de cartilaj, care formează partea principală a membrului regenerativ, se mai observă apariția de mănunchiuri de fibre musculare scheletice, precum și regenerarea unor mici fragmente osoase. În realitate, nu are loc niciodată o regenerare completă a întregului os al membrului. Cantitatea de fibre nervoase nu influențează organizarea structurii interne a regeneratului; nu se formează niciodată un blastem propriu, regenerarea efectuîndu-se doar prin creșterea țesuturilor vechi ale bontului regenerativ (605), (1162) (fig. 91).

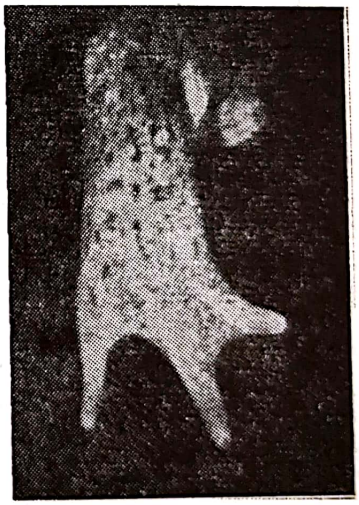


Fig. 91. — Regenerarea membrului posterior de *Xenopus* după inervare suplimentară, la 7 luni de la operație (după Konieczna-Marczynska și Skowron-Cendrzak).

În denervarea membrelor posterioare amputate, la anurele care nu-și refac în mod normal membrele după amputare se constată o scădere a numărului de mitoze în țesuturile de cicatrizare a plăgii (1048). Cu toate că la aceste anure amputarea nu este urmată de regenerare, suplimentarea nervoasă permite această regenerare. Astfel, suplimentarea nervoasă efectuată la *Rana palustris*, *R. pipiens*, *R. clamitans* permite inducerea regenerării parțiale a membrului anterior amputat la broscuțele tinere imediat după metamorfoză, fenomen care nu are loc în absența acestei suplimentări (1130), (1132), (1133). Din aceste date reiese că posibilitatea de regenerare a membrelor este legată, așa cum au arătat SINGER și școala sa, de numărul fibrelor nervoase care afectează teritoriul amputat.

În mod normal, la adultul de *Rana sylvatica* membrul său anterior nu regenerează, în timp ce acest proces are loc totuși la *Xenopus*. Aceasta se datorește faptului că la *Xenopus* sînt mai multe fibre nervoase pe unitatea de arie de amputație decît la *Rana sylvatica* sau la alte *Ranidae*. În orice caz, valoarea numerică a fibrelor nervoase este mult mai scăzută la ambele specii de anure decît la triton. Totuși, la *Xenopus* fibrele nervoase *sînt mai groase* decît la celelalte amfibii, ceea ce înseamnă că *diametrul fibrelor contează mai mult decît numărul fibrelor* și că membrul de *Xenopus* este prevăzut cu o neuro-

Scanned with OKEN Scanner

plasmă de aceeași cantitate ca și cea a membrului de triton. Astfel, cu toate că numărul fibrelor nervoase este mai redus la *Xenopus* decît la triton, membrul său este tot atît de bine inervat ca și cel al tritonului, pe cînd la *Rana* inervația este mai redusă. Deci, conceptul declinului inervației nervoase în evoluția vertebratelor trebuie reinterpretat în termenii cantității de substanță nervoasă (1037), (1155).

Sistemul nervos joacă un rol important și în regenerarea organelor periferice la larvele amfibiilor anure. Acestea dispun, în mod obișnuit, de o proprietate de regenerare, care este o potență autonomă a țesuturilor locale ale zonei de amputare (476). Cercetări mai vechi au arătat că amputarea regiunii dorsale a capului, inclusiv creierul, permite o regenerare normală a cozii mormolocilor de anure (1031). Aceste cercetări au fost confirmate mai recent, dovedindu-se că mormolocii de *Xenopus laevis*, a căror creștere este inhibată prin ablația prozencefalului, conservă o capacitate totală de regenerare a membrelor și a cozii (475), (476), (559), (1158), (1161). JURAND și colab. (568) consideră însă că la triton aceste aspecte nu sînt valabile decît dacă operația s-a efectuat în primele 5 zile după amputarea cozii, cînd procesul regenerativ este oarecum inhibat. În condițiile separării prozencefalului de restul sistemului nervos, ar avea loc o accelerare semnificativă a procesului regenerativ al cozii (568), (604). Extirparea unui singur emisfer nu aduce după sine modificări în ritmul procesului regenerativ al cozii, ceea ce dovedește că nu exercită nici o influență asupra ratei regenerării. Se pare că telencefalul are o acțiune inhibitorie asupra regiunilor inferioare ale sistemului nervos central și că ablația lui, eliberînd aceste regiuni, ar duce la accelerarea procesului regenerativ (568).

S-a mai constatat că eliminarea creierului anterior împreună cu plexul coroidian al ventriculului III nu inhibă regenerarea cozii la larvele de *Xenopus*. La larvele la care au fost amputate aceste părți cu 2—18 luni înainte de amputarea cozii apare o ușoară inhibare a regenerării (1161). Distrugerea telencefalului și a tavanului mezencefalului nu are însă o influență asupra regenerării cozii (476).

Distrugerea diencefalului (475), (476) provoacă inhibarea cantitativă și tulburări morfologice în regenerarea cozii mormolocului de *Xenopus*. Efectul este mai bine observat dacă se procedează numai la coagularea organului subcomisural al diencefalului. La embrioni, acesta dă naștere fibrelor Reissner, care trec prin canalul central și își împrăștie secreția neuro-endocrină, prin peretele veziculei terminale, la țesuturile înconjurătoare. De aceea, organul subcomisural poate fi considerat ca sursa factorului ce promovează regenerarea cozii la larvele de *Xenopus*.

Blocarea ventriculului III conduce la rezultate asemănătoare (476).

Secționarea sistemului nervos central înapoia creierului mijlociu sau în interiorul acestuia produce de asemenea frînarea regenerării cozii larvelor de *Xenopus* (475), (476).

Îndepărtarea telencefalului, a diencefalului sau a mezencefalului la mormolocii de *Rana temporaria* întîrzie sau împiedică regenerarea deja amorsată a membrelor (901).

Experiențele lui HAUSER (475), (476) și HOLTZER și colab. (509), (512) au arătat că întreruperea de durată (permanentă) a măduvei spinării la nivelul bazei cozii sau extirparea creierului posterior la larvele de *Xenopus laevis* conduc la o frînare cantitativă (50%) și la o morfogeneză atipică a rege-

Scanned with OKEN Scanner

nerării cozii amputate, de unde concluzia dependenței regenerării caudale sub influențele inductive ale măduvei spinării. În aceste cazuri, formarea blastemului este normală și deviația de la normal nu apare decît odată cu faza de creștere a regeneratului (ziua a 5-a). Se constată că măduva induce și organizează formarea cartilajului și controlează probabil și dispoziția mușchilor.

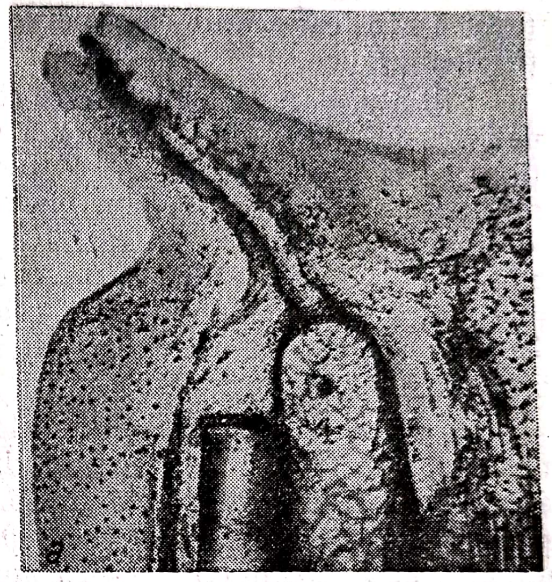


Fig. 92. — Regenerat al cozii mormolocului de *Xenopus laevis* lipsit de măduva spinării (după Roguski): *a*, regenerat de 8 zile, la care măduva spinării a fost blocată printr-o fibră de nylon; *b*, regenerat de 10 zile, la care a fost distrusă partea distală a măduvei spinării.

Regenerate anormale ale cozii au fost obținute și de Roguski (1005), (1006) prin îndepărtarea măduvei din zona de amputare a cozii la larvele de *Xenopus*.

Unii cercetători consideră că măduva spinării joacă un rol specific în regenerarea organelor periferice ale larvelor de *Xenopus* (385), (509), (512), (834), (1005), (1006), în absența măduvei neavînd loc regenerarea axului caudal (fig. 92). Alți autori (375), (684), (1181), dimpotrivă, susțin că regeneratele de coadă lipsite de măduvă și transplantate pe un membru amputat (transplantare heterotipică) au calități morfogene care nu se evidențiază *in situ*. Problema a fost însă rezolvată de Hauser, care a demonstrat că tulburările regenerative produse în urma amputației măduvei spinării sînt datorate blocării, la nivelul tavanului diencefalului, a unui factor de creștere, care ajunge apoi în canalul central al măduvei. Creșterea normală, coordonată, a diferitelor țesuturi din coada regenerativă este determinată de un factor (de o substanță chimică) secretat de către diencefal, factor a cărui distribuție în zona de regene-

rare are loc prin intermediul canalului central al măduvei. Locul său de producere ar fi organul subcomisural din diencefal, acest factor fiind o secreție a fibrelor Reissner sau o componentă a acestei secreții. De aceea, organul subcomisural poate fi considerat ca sursa factorului care promovează regenerarea (475), (476).

Măduva spinării nu are deci decît o acțiune nespecifică în calitatea ei de țesut nervos care emite fibre nervoase (597) și de organ transmițător al secreției diencefalice.

Prin urmare, capacitatea de regenerare a membrelor mormolocilor despinalizați de anure diferă de cea a mormolocilor despinalizați de urodele. În timp ce la primele regenerarea poate să se producă după ablația porțiunii medulare situate în apropierea regiunii de amputare, la urodele regenerarea are loc numai în condițiile integrității totale a măduvei spinării (1158). Totuși, anumite experiențe arată că nu ar exista o diferență esențială între modul de regenerare a cozii normale și a celei despinalizate, la mormolocul de *Alytes obstetricans* absența inervației senzitive întîrziind doar începutul și limitînd întinderea regenerării (712).

Ceea ce s-a spus este însă valabil doar pentru primele stadii ale regenerării caudale (901), dat fiind că distrugerea porțiunii terminale a măduvei aduce după sine o regenerare mai întîrziată a cozii mormolocilor de *Xenopus* și de *Rana temporaria* (1005), (1006) (fig. 93), spre deosebire de larvele de urodele, unde regenerarea este complet inhibată în asemenea condiții. Acest lucru se poate pune pe seama unui număr mai redus de fibre nervoase extraspinale, care inervează suprafața de amputare, la larvele de urodele față de cel de la anure, de unde diferența nervoasă cantitativă dintre cele două grupe de amfibii (1006).

Denervarea nu împiedică în primele stadii regenerarea membrelor larvelor de anure (epitelializarea plăgii), dar produce, atunci cînd este efectuată, o întîrziere sau chiar o stagnare a procesului regenerativ al acestor larve, în general la 8—10 zile după amputare (1031), (1125). S-a mai constatat că țesuturile stadiilor tinere ale dezvoltării larvelor de *Rana sylvatica* necesită un număr mai redus de fibre nervoase decît cele ale stadiilor mai vîrstnice, de unde

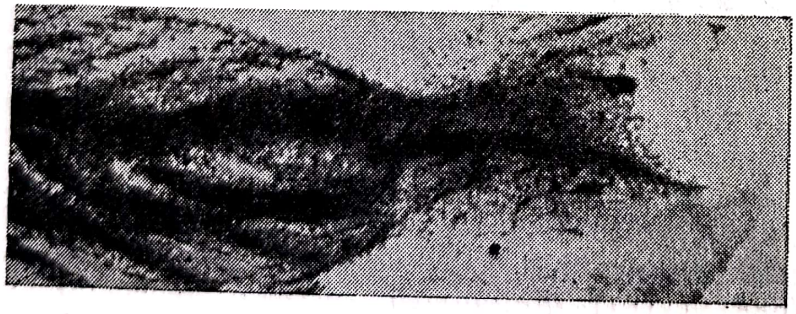


Fig. 93. — Regenerat de 11 zile al cozii mormolocului de *Rana temporaria*, la care măduva spinării a fost distrusă în partea ei distală. Regeneratul este lipsit de măduvă (după Roguski).

stabilirea unei corelații între capacitatea de regenerare a membrelor și numărul fibrelor nervoase (1322), (1324).

Unele experiențe au demonstrat și rolul sistemului nervos în desfășurarea procesului regenerativ la reptile. Astfel, blocarea creșterii măduvei spinării împiedică regenerarea cozii la șopîrla *Anolis carolinensis* (575). De asemenea, deteriorarea măduvei duce la inhibarea regenerării organotipice a cozii, la o întîrziere a proceselor de epitelializare și la inhibarea regenerării

Scanned with OKEN Scanner

epiteliului în coada de *Lacerta agilis* (615), (618). Acest lucru a fost demonstrat și la *Lygosoma laterale* prin înlăturarea porțiunii terminale a măduvei (1116), (1118), (1120).

S-a mai stabilit că distrugerea măduvei spinării la șopîrle determină întîrzierea epitelializării plăgii și a formării blastemului, regenerarea fiind doar parțială. Mușchii sînt dezorganizați, vertebrele se prezintă sub forma de mase cartilaginoase, iar mugurele regenerativ rămîne plat, fără acumulare și proliferare de celule blastemale și fără nervi. Epiteliul devine gros și cornificat (817).

S-a mai constatat că, la *Lygosoma*, măduva spinării determină poziția și orientarea regeneratului caudal (1117). Unele experiențe au arătat că țesutul ependimal are un rol mai important decît fibrele nervoase în regenerarea cozii la șopîrle. Simpson (1116), (1118), (1120) a demonstrat, la *Lygosoma*, că ependimul și celulele sale gliale sînt responsabile de inducția cartilajului axial al cozii regenerative. Într-adevăr, ependimul poate induce regenerarea, fapt constatat prin transplantarea ependimului ce conduce la inducerea unei cozi supranumerare, ependimul fiind un țesut nervos dotat cu calitățile trofice ale neuronului. Decurge deci că augmentarea rolului trofic în regenerarea cozii la șopîrla *Lygosoma*, prin prezența ependimului (chiar în absența fibrelor nervoase), permite regenerarea cozii.

Incapacitatea membrelor șopîrlelor de a regenera este datorată insuficienței cantitative de fibre nervoase de la nivelul suprafeței de amputare (1449). De aceea devine explicabil faptul că inervația suplimentară a membrului posterior al șopîrlei *Anolis carolinensis*, care nu regenerează în mod normal, determină regenerarea sa (1137), (1138), (1141). Această constatare a fost făcută și la alte șopîrle *(Lygosoma laterale, Lacerta agilis* etc.), la care suplimentarea nervoasă permite regenerarea cozii și a membrelor amputate (618), (1116), (1141). Țesuturile șopîrlei răspund mai greu la acțiunea nervoasă decît țesuturile tritonului (1148), dar această situație poate fi anulată prin suplimentarea nervoasă (618), (1137).

În sfîrșit, numeroase experiențe au demonstrat rolul important al sistemului nervos în procesele regenerative la mamifere.

La pisicile hemidecorticate, reacțiile imediate după criocauterizarea scoarței cerebrale au fost identice ca durată și intensitate atît de partea hemidecorticată, cît și de partea opusă. Reacțiile tardive (21—90 zile) au fost însă mult mai intense de partea hemidecorticată, unde restituția este mult întîrziată (814). La cîine, extirparea unei părți a scoarței cerebrale, concomitent cu formarea de plăgi cutanate, conduce la o prelungire a duratei vindecări plăgilor (714). De asemenea, extirparea unei părți a scoarței cerebrale la iepure, concomitent cu formarea de plăgi cutanate, duce la prelungirea duratei vindecării plăgilor de partea opusă lezării, ceea ce arată că influența reglatoare a creierului în procesele regenerative ale pielii se realizează pe căile nervoase încrucișate (929). În înlăturarea scoarței cerebrale la șobolani, procesele distructive din ficatul regenerativ sînt mult mai evidente în primele 24 de ore, fenomenele inflamatorii decurg mai încet, dezvoltarea țesutului conjunctiv din jurul traumei are loc mai lent și întregul proces regenerativ se desfășoară mai încet. Distrugerea parțială a scoarței intensifică însă procesul regenerării ficatului la șobolan (976).

Secționarea măduvei spinării (L_3 sau L_5), combinată cu denervarea membrelor posterioare și cu formarea de plăgi cutanate la 7—16 zile după trauma-

tizarea măduvei, produce la cîine o proliferare intensă a epiteliului la nivelul leziunii cutanate. Celulele epidermice, în special cele ale stratului spinos, cresc mult la sfîrșitul primei săptămîni, citoplasma lor devine tulbure, nucleii se măresc mult în volum și numărul straturilor de celule augmentează. În stadiile mai avansate, epiteliul de proliferare formează creste ce se înfig în țesutul conjunctiv, din care se desprind celule mari cu nuclei giganți, care se divid amitotic. Membrana bazală nu se formează, iar elementele stratului bazal se contopesc cu cele ale țesutului conjunctiv. În ultimul țesut predomină fibroblastele, forme celulare atipice, fasciculele colagene sînt mai laxe și apare un exsudat leucocitar. Aspectul final al plăgilor este cel al unor răni caloase nevindecate, cu marginile îngroșate, acoperite de epiteliu și prezentînd o necroză parțială a țesuturilor. Uneori se mai constată modificări necrotice profunde ale țesuturilor, formarea de creste epiteliale care pătrund în țesutul conjunctiv și fenomene de parakeratoză. Apar multe diviziuni celulare mitotice, dar mai ales amitotice, cele din urmă predominînd în stadiile mai avansate ale regenerării față de leziunile animalelor-martor. Diviziunile celulare sînt mai numeroase în epiteliu decît în țesutul conjunctiv. Se observă, în general, o încetinire a ritmului de vindecare a plăgii de partea paralizată (295), (296), (297), (298).

Întreruperea conexiunilor nervoase eferente ale unui teritoriu cutanat exercită un efect inhibitor asupra epitelializării și asupra maturizării elementelor conjunctive, ceea ce se manifestă și prin tulburări biochimice remarcabile în zona respectivă (KADILOV și OVSEPIAN, citați după (730)). Procesul de restaurare poate fi însă dirijat și stimulat printr-o inervație suplimentară (KUDOKOȚEV, citat după (730)).

Este, într-adevăr, știut că membrele și coada mamiferelor nu regenerează datorită faptului că numărul fibrelor nervoase pe unitatea ariei de regenerare este foarte scăzut. Astfel, la șoarece acest număr este doar de 16% față de cel existent la triton, de unde imposibilitatea regenerării acestor organe periferice (1038). În cazul șoarecelui, deficitul de fibre nervoase este mai pronunțat decît la șopîrlă și, chiar atunci cînd se dublează numărul de fibre prin suplimentare nervoasă (56), nu se produce o regenerare.

S-a constatat totuși că inhibarea inervației periferice conduce la o intensificare a reacției regenerative, pe cînd excitarea nervilor produce o slăbire a acestei reacții epidermale. Reacția regenerativă a dermului este însă încetinită în urma tulburării influenței nervoase (127), (128), (129), (130).

După secționarea nervilor periferici care inervează segmentul toracal și lombar al pielii iepurilor nu s-au observat modificări în procesele de cicatrizare a plăgilor cutanate (23). Metoda folosită în experiențele menționate este criticabilă. Or, experiențele bazate pe metode fiziologice au arătat că secționarea rădăcinilor posterioare influențează nefavorabil cicatrizarea plăgilor (1179). La șobolan, secționarea unilaterală a rădăcinilor anterioare produce o diminuare a activității mitotice a celulelor epidermice din dreptul membrului denervat, dar nu exercită aceeași acțiune asupra vitezei cicatrizării plăgilor. La același animal, secționarea rădăcinilor posterioare nu modifică numărul celulelor epidermice în diviziune, dar determină apariția de ulcere trofice la nivelul plăgilor cutanate (619), (620), (621). Denervarea totală a pielii la șobolan produce o diminuare a numărului de mitoze și o încetinire a vindecării plăgilor cutanate (292), (619). În lezarea epiteliului și a țesutului conjunctiv al pielii denervate de pisică, se constată o proliferare epitelială mai

Scanned with OKEN Scanner

rapidă. Dacă leziunea nu afectează însă decît epiteliul, regenerarea este mai lentă (378). Denervarea urechii la iepure produce de asemenea o descreștere a numărului de mitoze în epiteliul regenerativ (1048). S-a mai constatat că suturarea nervilor secționați provoacă vindecarea ulcerelor trofice (506), (507).

Leziunile sistemului nervos influențează și regenerarea țesutului muscular și osos. Pentru a fi completă, regenerarea musculară trebuie să conducă la formarea unei fibre capabile de contracție sub influența unui stimul nervos. Sistemul nervos central exercită o acțiune stimulatorie asupra regenerării musculaturii scheletice la cobai și la cîine, prin intermediul ganglionilor spinali (695). Denervarea conduce însă la rezultate contradictorii privind regenerarea musculară. Astfel, unii autori au susținut că mușchiul denervat nu regenerează (1046). Totuși, anumite observații au stabilit că nu există deosebiri fundamentale între regenerarea mușchiului denervat și regenerarea normală, cum este cazul mușchiului gastrocnemian de șobolan după amputarea nervului sciatic. Acest fapt a condus la ideea posibilității regenerării musculare în cazul denervării mușchilor lezați. Pe de altă parte, faptul că celulele musculare sînt capabile să crească și să sufere o morfogeneză normală *in vitro* dovedește că inervația nu este absolut necesară pentru inițierea treptei fundamentale a dezvoltării musculare. S-a demonstrat, într-adevăr, că mioblastele și sarcoblastele cresc abundent în culturile de țesut și că miofibrilele se pot dezvolta în aceste condiții, păstrînd striația lor transversală. Rezultate similare au fost obținute și prin studiul influenței nervoase asupra dezvoltării embrionare a mușchiului. La fătul de șobolan, diferențierea sarcoblastelor în fibre musculare mature este posibilă după denervare. Totuși, procesul de maturare este încetinit și unele sarcoblaste se opresc într-un anumit stadiu, pe care nu-l depășesc.

Rezultatele denervării asupra regenerării musculare la mamifere sînt deci contradictorii, ele fiind variabile în raport cu specia sau cu mușchiul folosit pentru experimentare. Se poate spune, în general, că fibrele musculare denervate suferă o atrofie generală și totală. Dar, alături de aceste fibre atrofiate se pot observa și elemente sarcoblastice multinucleate, precum și o pseudohipertrofie a altor fibre. Or, prezența sarcoblastelor este considerată drept semn de regenerare musculară (61). Dealtfel, alți autori (653) au stabilit, prin electronomicroscopie, că celulele-satelit apar mai frecvent în mușchii denervați decît în cei cu inervație intactă.

Anumite experiențe au demonstrat că denervarea senzitivă a cățeilor de 3—6 luni este legată de o regenerare musculară mai intensă în stadiile precoce, pentru ca aceasta să devină ulterior (spre sfîrșitul săptămînii a 2-a) mai lentă. Dacă se execută denervarea motorie, regenerarea musculară este lentă în stadiile precoce și sfîrșește prin a stopa complet (598).

Problema regenerării musculare după o denervare prealabilă este greu de interpretat, dat fiind că imaginile histologice nu spun cu destulă claritate dacă efectul este datorat denervării sau/și altor factori. După unii autori (534), (1215), inervația mușchiului este esențială pentru regenerare, începînd din stadiul de sarcoblast. Alți autori (250), (1360) susțin că regenerarea este aproape normală atunci cînd denervarea este de dată recentă. Cînd fibrele nervoase sînt atrofiate, procesele regenerative sînt considerabil diminuate.

Din toate aceste date pare să reiasă că diferențierea mușchiului regenerativ are loc în absența nervilor doar pînă la un anumit stadiu al dezvoltării

Scanned with OKEN Scanner

sale, după care diferențierea ar fi strict legată de prezența sistemului nervos periferic.

În inervarea suplimentară, printr-o ramură a nervului sciatic, a mușchiului semimembranos al iepurilor și cobailor, se constată o regenerare mai intensă a mușchiului. Atrofia elementelor musculare este mai slab exprimată, fibrele musculare sînt mai groase și mai puțin ramificate decît la martorul lipsit de inervație suplimentară (532).

Pe de altă parte, s-a pus problema reinervării fibrelor musculare regenerate. S-a arătat că, în cazurile de necroză ischemică, axonii încep să se ramifice și să prolifereze în mușchiul adiacent zonei necrotice, invadînd progresiv aria în care are loc regenerarea, pentru a ajunge astfel în contact cu fibrele musculare neoformate (85), (86). Este însă dificil de precizat dacă la acest nivel se formează o nouă placă terminală. În unele cazuri, acumularea de acetilcolinesterază în dreptul acestor terminații nervoase sugerează posibilitatea formării unei plăci terminale atipice.

Denervarea produce și brusca încetinire și denaturare a proceselor vindecării osului la iepuri (461). De asemenea, la nivelul plăgilor corneene produce fenomene de ratatinare celulară, picnoză, scăderea ritmului și a numărului mitozelor, precum și încetinirea vindecării plăgii (1114).

Unii autori (421), (592) consideră că secționarea fibrelor efectoare parasimpatice ale rădăcinilor posterioare, care transmit impulsurile trofice la țesuturi, este responsabilă de dezvoltarea defavorabilă a cicatrizării în cazul denervării. Împiedicarea regenerării tiroidei prin vagotomie (1173) vine în sprijinul acestor opinii. Există însă și unele experiențe care au arătat că vagotomia nu împiedică regenerarea ficatului la șobolan (977).

Extirparea unei porțiuni a nervului cervical simpatic împreună cu ganglionul cervical superior permite accelerarea vindecării plăgilor cutanate (efectuate la 11 zile după simpatectomie) la iepuri, precum și o vindecare mai rapidă a plăgilor repetate (221).

Secționarea nervilor periferici are deci, după toată probabilitatea, drept rezultat sistarea influențelor neurotrofice asupra țesuturilor inervate. Intensitatea inhibiției vindecării depinde și de timpul care se scurge de la denervare pînă la efectuarea plăgii. Astfel, atunci cînd se face denervarea membrului posterior la șobolan, iar plaga se efectuează doar la 17 zile pînă la 4 săptămîni după denervare, cicatrizarea este total absentă (200).

Unele experiențe au demonstrat că sistemul nervos central nu numai că poate avea o influență hotărîtoare asupra mersului procesului regenerativ, dar el însuși poate suferi modificări în urma regenerării. Astfel, în regenerarea mușchilor membrelor la șobolani se constată modificări celulare în nucleii medulari postero-laterali (colorație mai palidă, cromatoliză, comportare anormală a nucleolilor), modificări care dispar odată cu încheierea procesului de regenerare (365).

Din datele expuse pot fi desprinse unele concluzii generale, și anume:

1. Sistemul nervos are un rol deosebit în regenerare, dat fiind că, datorită diferențierii sale evolutive, a ajuns să subordoneze parțial fenomenele restituționale. Tulburările ivite la nivelul său provoacă deci modificări în desfășurarea și în morfogeneza regeneratului. De aceea, în general, se poate spune că inhibarea activității nervoase provoacă inhibarea procesului rege-

Scanned with OKEN Scanner

nerativ, iar intensificarea activității nervoase duce la accelerarea procesului regenerativ.

2. Sistemul nervos are un rol reglator important în procesele regenerative datorită *acțiunii sale trofice și inductoare* (605), (1139), (1140,) (1152). Experiențele par să demonstreze că întreruperea acțiunii nervoase are, cu toată probabilitatea, rolul de sistare a influențelor neurotrofice asupra țesutului inervat și, ca o consecință, inhibarea sau încetinirea proceselor regenerative. Unele experiențe arată că fibrele nervoase simpatice nu joacă nici un rol în regenerarea organelor externe la amfibii (1231), în timp ce alte experiențe infirmă această aserțiune (221), (421), (592), (977), (1173).

Influența trofică a sistemului nervos central și periferic asupra proceselor de regenerare nu mai constituie astăzi nici un dubiu, dar mecanismele prin care acest sistem intervine în dirijarea troficității țesuturilor și în morfogeneza regenerativă sînt încă destul de puțin cunoscute. Se pare că acțiunea nervoasă trofică este doar *cantitativă* (control neuronal cantitativ), dar că are, uneori, și efecte *calitative* (166), (287), (1037), (1078), (1081), (1127), (1128), (1132), (1155), (1322), (1449).

Procesele morfogenetice ale regenerării nu sînt decît expresia vizibilă a proceselor metabolice care au loc în organele pe cale de regenerare, procese influențate de sistemul nervos. Prin acțiunile sale secretorii, sistemul nervos acționează asupra proceselor metabolice ale țesuturilor regenerative. Astfel, sistemul nervos reglează consumul de oxigen necesar desfășurării procesului regenerativ. În urma lezării sistemului nervos, consumul de oxigen scade, ceea ce provoacă inhibarea creșterii și a diferențierii regeneratului. Înseamnă că respirația tisulară dirijată de sistemul nervos este o condiție obligatorie pentru creșterea și diferențierea structurilor. Totuși, în pofida lezării sistemului nervos, inhibiția completă a regenerării nu are loc, regenerarea continuînd — este adevărat mult mai lent —, astfel că porțiunea regenerată este mult mai redusă în volum și în lungime.

În cazul lezării sistemului nervos și al reducerii respirației tisulare, procesul regenerativ se desfășoară mai lent și incomplet, datorită unui proces anaerobiotic în care grupările macroergice sînt folosite drept surse de energie.

Glucidele, al căror nivel scade considerabil în cursul desfășurării normale a procesului regenerativ, se mențin neschimbate în cazul lezării sistemului nervos. Se pare deci că, în condițiile lezării sistemului nervos, perioada predominant anaerobiotică, cu care debutează regenerarea, nu s-ar prelungi și în etapele următoare, consumul de oxigen fiind necesar menținerii vieții celulare.

Pe de altă parte, se constată că regenerarea este însoțită întotdeauna de o reducere a cantității de aminoacizi, de o scădere cantitativă a proteinelor și de o creștere considerabilă a acetilcolinei și a histaminei, procese ce par a fi legate de acțiunea sistemului nervos asupra desfășurării regenerării.

3. Tulburările nervoase cu repercusiuni asupra regenerării pot privi toate segmentele sistemului nervos central și periferic. S-a constatat că la animalele poikiloterme telencefalul nu exercită nici o influență asupra desfășurării procesului regenerativ, fapt ce nu-și are corespondentul la homeoterme, unde el joacă un rol important în regenerare, și că rolul major în influențarea regenerării revine diencefalului. În general, extirparea diencefalului, a mezencefalului, a măduvei spinării și a ganglionilor spinali conduce

Scanned with OKEN Scanner

la o întîrziere sau la o inhibiție în formarea blastemului, la o reducere a volumului organului regenerativ și la modificări ale diferențierii sale.

Capacitatea de regenerare a membrelor și a cozii larvelor de urodele are loc, în mod cert, numai în condițiile integrității totale a măduvei spinării (1158), acțiunea măduvei asupra regenerării organelor externe părînd a fi specifică. Această acțiune s-ar efectua, în regenerarea cozii larvelor de salamandră, numai în ceea ce privește regenerarea organelor axiale, care nu regenerează atunci cînd măduva este lezată. În schimb, țesutul conjunctiv și epidermul regenerează chiar în absența acțiunii măduvei. Este deci posibil ca în regenerarea extremităților măduva să joace un rol de aceeași însemnătate ca și cel al nervilor. Ea ar aduce un aport deosebit, dar pur cantitativ, de fibre nervoase, indispensabile formării blastemului (595), (597).

Cercetări mai recente au arătat însă că acțiunea măduvei este nespecifică, măduva fiind doar un organ transmițător al unei secreții diencefalice cu rol activ în excitarea regenerării, iar amputarea măduvei producînd blocarea acestui factor diencefalic.

4. Acțiunea sistemului nervos periferic asupra proceselor regenerative ale organelor externe și interne este variabilă, în funcție de anumite condiții. Astfel, la embrionii tineri, neinervați încă (aneurogeni), regenerarea poate avea loc și în absența fibrelor nervoase periferice. În urma secționării complete a plexului brahial la urodele, înainte sau concomitent cu amputarea membrului anterior, unii autori consideră că operația împiedică creșterea, dar permite diferențierea blastemului (1375), (1383). Autorii moderni au stabilit însă că *denervarea împiedică formarea blastemului, creșterea și diferențierea regeneratului* (763). Influența nervilor în procesele regenerative la amfibii este, așadar, importantă nu numai în ceea ce privește declanșarea formării blastemului, ci și în declanșarea activității mitotice ulterioare — denervarea fiind însoțită de o diminuare a mitozelor —, deci a procesului de creștere și de restabilire a volumului normal al membrului regenerat (104), (1132). Prezența nervilor ar favoriza dediferențierea și creșterea regeneratului și, ca o consecință, și diferențierea sa.

Odată blastemul format, denervarea nu mai împiedică diferențierea lui, deși creșterea regeneratului rămîne blocată (763), (1143).

S-a mai stabilit că influența nervilor se exercită doar asupra formării blastemului, și nu asupra formării epiteliului regenerativ, care regenerează normal în condițiile denervării (1106), (1134). Scufița apicală epidermică se poate astfel forma și în condiții de denervare completă (1154).

Nervii periferici au deci rolul activ de inițiere a formării blastemului, a declanșării activității sale mitotice și a determinării volumului regeneratului.

5. S-a crezut că orice tip de neuron periferic este capabil de a induce regenerarea membrelor și a cozii la amfibii. Anumite cercetări (484) au arătat însă că nu toți neuronii pot transmite un impuls regenerativ, unii dintre ei avînd acțiuni inductoare, iar alții fiind doar agenți de transmisie. Fapt este că se pot obține, cu ajutorul aceluiași nerv, structurile cele mai diferite după natura teritoriului excitat (115), (440). Natura nervului apare deci oarecum mai lipsită de importanță. Se pare că nervii ar avea o acțiune nespecifică în diferențierea morfogenetică a potențialităților unui anumit teritoriu. Astfel, nervul sciatic deviat de la membre către creasta de triton comandă re-

Scanned with OKEN Scanner

generarea crestei, pe cînd nervul sciatic deviat de la membre către coadă comandă regenerarea cozii. De fapt, observațiile au arătat că rolul nervilor este mai specific decît se credea. În devierea nervului sciatic la nivelul cozii, nu se obțin structuri caudale tipice, precum ar cere natura teritoriului de regenerare „coadă", ci doar apendice caudiforme *(tail-like)*, lipsite de schelet și de musculatură și constînd doar din țesut conjunctiv (110). Cantitatea de fibre motorii ale nervului are, așa cum au evidențiat cercetările recente, o anumită însemnătate în morfogeneza regeneratului (443), (1141). În regenerarea organelor interne la urodele s-a constatat că și natura nervilor aferenți este de o oarecare importanță în efectuarea regenerării. Astfel, la *Ambystoma mexicanum*, prezența nervului olfactiv contribuie în foarte mare măsură la regenerarea cristalinului (600).

Contribuția relativă a diferitelor tipuri de neuroni este însă un factor de minoră importanță comparativ cu contribuția adusă de numărul total de neuroni și, mai ales, de numărul fibrelor nervoase care ajung la plagă și în aria regenerativă (1132), (1133), (1141). LIVERSAGE (690) a demonstrat că membrele de urodele adulte transplantate pot fi izolate neural de gazda lor, păstrîndu-și însă capacitatea de regenerare în cazul cînd sînt prevăzute cu un nerv local intact, nerv avînd fibre nervoase în cantitate suficientă.

S-a stabilit astfel că regenerarea membrelor și a cozii larvelor de urodele, în esență realizarea unei agregări blastemale, necesită mai degrabă prezența unui anumit număr de fibre nervoase intacte (a unui anumit prag cantitativ de fibre nervoase) decît prezența unui anumit tip de nervi (1), (1122), (1123), (1124), (1125), (1126), (1127), (1128), (1132), (1142), (1144), (1158), (1322), (1324). Așadar, nervii influențează, în general, procesul regenerativ, *mai degrabă pe cale cantitativă decît calitativă*, cu toate că această influență are uneori și efecte calitative (880).

Denervarea parțială a membrelor anterioare la larvele de salamandră, provocată prin rezecția trunchiurilor plexului brahial, provoacă o întîrziere în desfășurarea regenerării, întîrziere proporțională cu întinderea denervării. Distrugerea unei cantități mai mici de fibre nervoase nu produce sau produce doar o slabă întîrziere a procesului regenerativ. Cele mai multe membre regenerează după o întîrziere a procesului în funcție de întinderea denervării, dar unele membre nu regenerează deloc atunci cînd denervarea este mai largă. Se pare că ramurile colaterale ale fibrelor intacte iau locul, prin creșterea lor spre periferie, fibrelor distruse și regenerarea se produce numai atunci cînd se atinge un anumit prag de existență a unor fibre nervoase nelezate, necesare regenerării. În cazul cînd acest prag nu este atins, regenerarea nu are loc.

Deci, spre deosebire de urodelele adulte, unde regenerarea membrelor depinde strict de un anumit prag numeral de fibre nervoase, la larvele de urodele regenerarea, în condițiile denervării, nu este determinată de un prag strict numeral de fibre nervoase, ci depinde proporțional de numărul fibrelor nervoase existente. Așa cum s-a arătat, regenerarea în denervarea parțială la larve, prin secționarea plexului brahial, decurge mai încet sau mai repede în raport cu numărul fibrelor nervoase, volumul regeneratului fiind și el proporțional cu acest număr. Prin urmare, membrul amputat al larvelor de urodele este destul de labil în răspunsurile la influența nervoasă, putînd să se adapteze la o reducere a inervației, pentru a regenera după o oarecare întîrziere (578).

Scanned with OKEN Scanner

S-a constatat că la triton sînt necesare 1/3 — 1/2 din fibrele nervoase obișnuite pentru ca regenerarea să aibă loc (1126), (1127), (1132), (1144), (1322), (1324). La animalele prezentînd un număr mai redus de fibre nervoase pe aria lor de regenerare față de triton (*Rana*, *Anolis*, *Mus*), membrele nu regenerează în mod normal, insuficiența cantitativă de fibre nervoase împie-

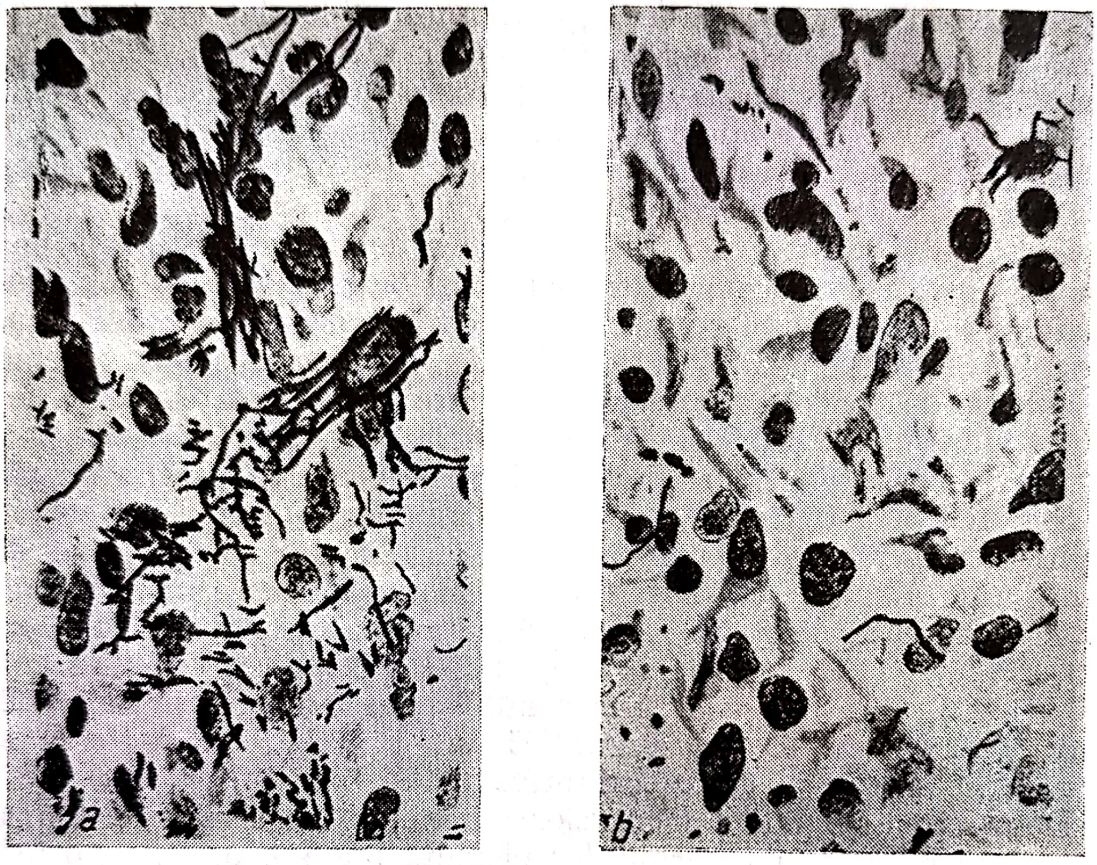


Fig. 94. — *a* și *b*, Inegala distribuție a fibrelor nervoase în tînărul regenerat de membru de triton (după Singer, Ray și Peadon).

dicînd regenerarea. La șopîrla *Anolis* sau la șoarece (1038), (1449), regenerarea nu poate avea loc, dat fiind că numărul de fibre nervoase nu atinge pragul necesar. Într-adevăr, la șoarece numărul de fibre nervoase pe aria de unitate de amputare este de numai 16 % față de cel al tritonului (1038).

Pe de altă parte, inegala distribuție a fibrelor nervoase (fig. 94) pe suprafața de amputare este corelată cu o contribuție regenerativă inegală a blastemului tînăr, ceea ce înseamnă că fibrele nervoase impun o orientare preferențială a celulelor blastemale (1141).

Totuși, problema este mai complicată decît pare. Cercetări mai recente au arătat că procesul regenerativ nu depinde de numărul absolut al fibrelor nervoase care iradiază regiunea respectivă, ci de *densitatea inervării suprafeței de amputare*, precum și de reacția de răspuns a țesuturilor, care sînt mai receptive la stimulii nervoși în cazul stadiilor ontogenetice mai tinere. Aceasta face ca numărul fibrelor nervoase necesare desfășurării procesului regenerativ să fie mai scăzut la larvele de urodele decît la adulți, dat fiind că inervația suprafeței de amputare la larve este mai densă decît la adult.

Scanned with OKEN Scanner

Astfel, dacă la animalul adult, pentru desfășurarea regenerării unui membru amputat, sînt necesare 54,5% din numărul fibrelor nervoase normale, la animalul tînăr sînt suficiente doar 12,8—31,5%, iar la larve doar 8—20%.

KARCZMAR (578) a observat, la larvele de *Ambystoma punctatum*, că secționarea nervilor brahiali 3 și 4 nu împiedică regenerarea atunci cînd este păstrat nervul 5, care contribuie doar cu 10% în determinismul nervos al regenerării. În schimb, la adult nervul 5 nu permite niciodată, atunci cînd este păstrat singur, o regenerare a membrelor. De asemenea, DECK (242) a arătat că regenerarea la larvele de *Ambystoma maculatum* are loc în 73% din cazuri doar în prezența nervului 5, care este cel mai subțire dintre nervii brahiali. Nervul brahial 5 este insuficient în inducerea regenerării membrului la adult, dar satisface cererile numerice nervoase în vederea regenerării membrelor la larve (859).

Este cert că, odată cu evoluția ontogenetică, sporește numărul absolut al fibrelor nervoase, dar sporește paralel cu volumul membrelor, ceea ce face ca raportul de creștere să fie în favoarea ultimului termen, deci saturația țesuturilor cu fibre nervoase să fie mai mare la larvă decît la adult (860). În fond, numărul fibrelor nervoase care crește progresiv odată cu evoluția ontogenetică scade pe unitatea de suprafață paralel cu această evoluție, ceea ce explică scăderea capacității regenerative în ontogeneză.

Pare însă surprinzător că membrul de *Xenopus* poate regenera, cu toate că pragul fibrelor nervoase la anure este mult diminuat față de cel de la urodele. Este rezonabil să se creadă că diferența cantitativă în inervația membrului

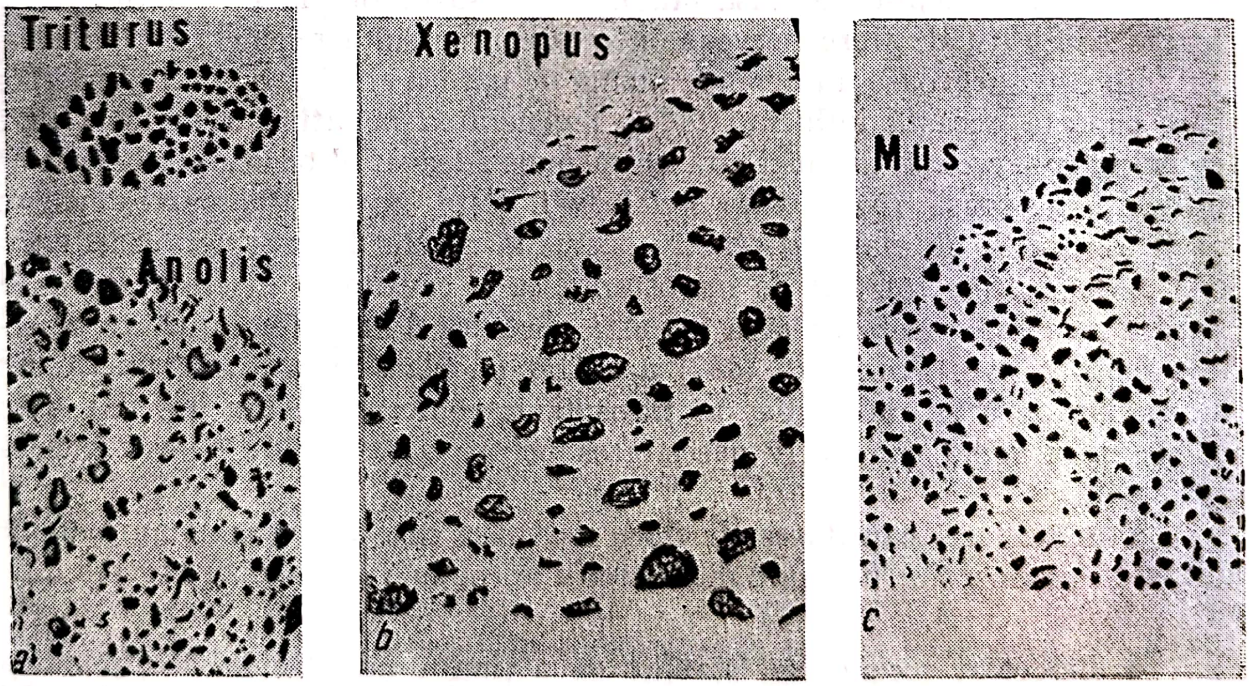


Fig. 95. — Calibrul fibrelor nervoase (după Rzehak și Singer): *a*, la *Triturus* și *Anolis*; *b*, la *Xenopus*; *c*, la *Mus*.

la *Xenopus* față de *Rana* favorizează prima specie, dat fiind că această inervație este mai bogată decît la celelalte anure sau decît la șopîrlă sau la șoarece. Curios este însă că această regenerare are loc la *Xenopus*, unde numărul fibrelor nervoase este mai scăzut decît la triton. Faptul se lămurește dacă se ia în considerare un alt factor, și anume grosimea nervilor (fig. 95). *Xenopus*,

Scanned with OKEN Scanner

ale cărui membre sînt mai slab inervate decît cele ale tritonului, dispune însă de nervi mai groşi decît ai celui din urmă, ceea ce face ca membrul de *Xenopus* să fie prevăzut, tot atît de bine ca şi membrul de triton, cu o cantitate mare de neuroplasmă (1155), care permite regenerarea membrului.

Din aceste date rezultă că nu toate fibrele nervoase au o egală contribuţie la procesul regenerativ, fibrele mai subţiri fiind mai puţin eficace decît cele groase, iar fibrele motorii avînd o contribuţie mai pregnantă decît cele senzitive (1322).

Datele menţionate sînt confirmate şi prin inervaţia suplimentară. A fost demonstrat că inervaţia suplimentară favorizează regenerarea atît la anure, cît şi la şopîrle, la care inervaţia normală nu permite acest proces, acţiunea favorizantă a regenerării fiind direct proporţională cu numărul fibrelor nervoase suplimentare. Totuşi, la animalele superioare (mamifere), dublarea inervaţiei obişnuite prin suplimentare nervoasă nu ajunge să permită atingerea pragului nervos necesar acestei regenerări, prag care este foarte scăzut; de aceea, regenerarea nu are loc nici în condiţiile suplimentării nervoase (56).

Pragul nervos nu este însă fix, ci variază în funcţie de anumite condiţii (natura fibrelor nervoase, răspunsul ţesuturilor plăgii), rolul ţesuturilor plăgii în stabilirea pragului nervos fiind deosebit de important. Sistemul care răspunde la influenţa nervoasă (ansamblul ţesuturilor plăgii) determină valoarea cantităţii de fibre nervoase necesare procesului regenerativ. Rezultatul influenţei nervoase nu depinde numai de natura ei, ci şi de natura părţilor care suportă această influenţă (440), regenerarea neputînd avea loc fără o contribuţie nervoasă, dar nici fără un răspuns adecvat al ţesuturilor la această influenţă nervoasă *(competenţa sectorului)*. Este, pe de altă parte, evident că şi cantitatea de material reactiv dispus la nivelul la care nervul îşi exercită acţiunea este tot atît de importantă ca şi cantitatea de fibre nervoase. Pentru ca morfogeneza să aibă loc este necesară o anumită cantitate de celule regenerative. POLEJAEV (887) a arătat că blastemele foarte tinere sînt incapabile de a se diferenţia, în transplant, conform originii lor, dat fiind că ele nu acoperă cantitativ necesitatea pentru a se asigura o morfogeneză autonomă.

Prin urmare, cantitatea de fibre nervoase care inervează suprafaţa de amputare şi care sînt necesare desfăşurării normale a regenerării nu este fixă, ci variabilă (1141).

6. Cercetări recente au stabilit că acţiunea nervilor în determinarea procesului regenerativ se face prin intermediul unui agent chimic trofic, elaborat de nervi, într-o concentraţie anumită, deci un anumit tip de activitate neurosecretorie ce acţionează în aria regenerativă (39), (484), (647), (690), (691), (692), (1069), (1077), (1078), (1081), (1105), (1123), (1129), (1134), (1136), (1142), (1147). Aceste cercetări arată că un anumit tip de activitate neurosecretorie ce acţionează în aria regenerativă este responsabil de influenţa exercitată de nervi asupra regenerării.

Scanned with OKEN Scanner

S-a constatat astfel, la *Triturus viridescens* (647), stimularea sintezei proteice în membrele pe cale de regenerare, datorită unui agent chimic secretat de fibrele nervoase. A fost denervat un membru la 10—14 zile după amputare, fază caracterizată printr-o rapidă acumulare a celulelor blastemale, și s-a folosit leucina marcată la 48 de ore după denervare. S-a observat că atît blastemul inervat, cît și cel denervat acumulează leucina în primele 8—10 ore, fază după care urmează un platou în ceea ce privește încorporarea leucinei. La animalele denervate, denervarea are însă un efect remarcabil asupra încorporării leucinei marcate, reducînd rata și nivelul final la 40—45%. Pe de altă parte, s-a evidențiat o inhibiție liniară a sintezei de proteină, paralelă cu extinderea distrugerii nervoase. În fine, homogenatele nervoase stimulează sinteza proteică a regeneratelor denervate timp de 48 de ore după administrare. Concluzia este că 40% din sinteza proteică a membrului în regenerare este nerv-dependentă. S-a mai constatat că denervarea este legată de o reacție fibrocelulară combinată cu o creștere în sinteza de glicogen. Din toate aceste date se poate trage concluzia că influența neurotrofică în regenerare este de origine chimică.

Se pare că substanța eliberată de nervi este de natură enzimatică și generează formarea factorului de creștere (1152). Agentul trofic nu este acetilcolina, așa cum presupuneau anumiți autori (1128), ci mai degrabă histamina (245). De fapt, agentul chimic este ubicuitar, găsindu-se în toate celulele, și nu numai în nervi, fiind un produs al metabolismului celular comun necesar formării de citoplasmă nouă. Dar, pentru a menține echilibrul cantitativ al citoplasmei cilindracșilor lor, nervii au nevoie de mari cantități de citoplasmă, cu mult mai mari comparativ cu ceea ce pot produce alte celule decît cele nervoase. Substanța trofică, secretată de celulele nervoase, migrează de-a lungul cilindracșilor și este vărsată în țesuturile periferice pentru a servi la regenerarea lor. Răspunsul crescut al țesuturilor la acțiunea nervoasă reflectă doar o augmentare în producerea factorului trofic eliberat de țesuturile nenervoase.

Pornind de la aceste date, unii autori consideră că prezența căii nervoase intacte a gazdei poate fi esențială în conducerea impulsurilor din aria plăgii la sistemul nervos central, pentru a stimula probabil sinergismul hipofizo-adrenal (692), (1075), (1084).

Cele relatate explică și posibilitatea regenerării membrelor aneurogene ale embrionilor tineri neinervați încă, unde regenerarea este posibilă datorită existenței unei mari cantități de substanță trofică enzimatică elaborată de celulele nenervoase, substanță care stimulează factorul de creștere și este similară celei eliberate de țesutul nervos. Aceasta face ca membrele aneurogene să regenereze chiar dacă țesuturile subepidermale sînt înlocuite prin țesuturi ce provin de la membre neurogene. Astfel, în virtutea producerii unei mari cantități de substanță neurotrofică, celulele pielii pot suplini toate țesuturile necesare regenerării membrului, servind drept sursă trofică majoră (1139), (1141), (1152), (1263), (1439). Înlocuirea mezodermului propriu al larvelor aneurogene prin mezoderm prelevat de la larve cu membrele inervate

Scanned with OKEN Scanner

(mezoderm tratat cu tiamină marcată) conduce la regenerare, constatîndu-se producerea de celule blastemale marcate în membrele aneurogene (1187).

Se pare deci că, odată cu evoluția ontogenetică, eficacitatea acestui sistem ar scădea, astfel încît sursa majoră a factorului de creștere rămîne sistemul nervos. Înseamnă că în evoluția ontogenetică a organismelor trebuie să existe o perioadă critică, în care influența trofică a țesuturilor nenervoase scade, iar sistemul nervos preia, în competența sa, rolul major în regenerare.

7. Un rol important al sistemului nervos constă și în faptul că celulele mezodermale dediferențiate provenite din bontul de amputare împrumută, pentru a forma blastemul, calea migrării de-a lungul tracturilor nervoase (FEDECKA, HERLANT, SINGER).

8. Influența tulburării nervoase asupra desfășurării procesului regenerativ depinde însă și de condițiile în care are loc acest proces. În anumite condiții, tulburarea nervoasă poate produce o inhibiție paralel cu creșterea și diferențierea morfologică, în timp ce în alte condiții aceeași tulburare nervoasă poate conduce la o întîrziere a creșterii, cuplată însă cu o diferențiere morfologică completă. Important de reținut este faptul că acțiunea sistemului nervos ar depinde de numeroși factori, printre care cei mai decisivi sînt specia căreia aparține animalul, organul sau țesutul implicat, momentul tulburării sistemului nervos în raport cu fazele regenerării, timpul care se scurge între tulburarea nervoasă și începutul regenerării, natura tulburării nervoase, segmentul sau grupul de segmente nervoase afectate (întinderea denervării), vîrsta animalului și natura reactivității țesuturilor plăgii. Toți acești factori pot modifica creșterea sau diferențierea regeneratului, ritmul și desfășurarea regenerării. Cunoașterea acestor factori creează posibilitatea influențării dirijate a regenerării, fapt deosebit de important pentru practica zootehnică și medicală.

Bazele hormonale ale regenerării

Arătînd importanța stabilirii unei circulații intacte în vederea regenerării membrelor la *Xenopus*, TSCHUMI (1294) a deschis calea cercetării influenței hormonilor în dezvoltarea proceselor regenerative. Astfel, SCHOTTÉ (1075) a arătat dependența regenerării extremităților la urodele de natura mediului hormonal (substanțele trofice hormonale).

Intervenția factorilor hormonali în regenerarea extremităților la amfibii este aproape tot atît de importantă ca și cea a factorilor nervoși. Aceasta cu atît mai mult cu cît se pare că pierderea capacității regenerative la anurele adulte este într-o oarecare măsură decisă și de factorii umorali.

Este cert că viteza procesului de regenerare este foarte sensibilă la fluctuațiile echilibrului hormonal.

În cazul regenerării de tip compensator, secrețiile endocrine au un rol deosebit de important. Influența glandelor endocrine este evidentă, mai ales în cazul regenerării hepatice (975).

Scanned with OKEN Scanner

Numeroşi autori au arătat rolul *hipofizei* în regenerarea extremităţilor la triton. Diferite experienţe (460), (537), (1000), (1081), (1084) atestă efectul inhibitor al hipofizectomiei asupra regenerării membrelor la urodelele adulte prin absenţa formării blastemului. Ablaţia acestei glande nu are efect în primele 10 zile după amputare; ulterior însă, lipsa ei inhibă procesul regenerativ (1084). Transplantarea hipofizei la tritonii hipofizectomizaţi restabileşte capacitatea lor regenerativă, cu toate că transplantul este lipsit de conexiuni nervoase şi vasculare. La tritonii hipofizectomizaţi, aportul exogen de hormon hipofizar restabileşte capacitatea regenerativă a extremităţilor (819), (820). Totodată, un tratament hormonal prealabil amputării este favorabil procesului regenerativ, pe care-l accelerează.

Cercetări experimentale au arătat că hormonul care ţine sub dependenţa sa procesele regenerative este hormonul somatotrop. Administrarea hormonului somatotrop la tritonii hipofizectomizaţi este în măsură să restaureze regenerarea extremităţii amputate. Mecanismul prin care ar acţiona hormonul somatotrop ar fi de ordin metabolic. El ar conduce la augmentarea conţinutului de acizi nucleici în ţesuturi şi, astfel, la accelerarea procesului regenerativ. Este interesant de menţionat că, la temperaturi joase, efectele induse de administrarea hormonilor sînt mai favorabile.

Hormonul hipofizar somatotrop stimulează de asemenea regenerarea hepatică, potenţînd procesele hiperplazice (1327), (1331), (1332). După Li şi Evans, ficatul ar constitui veriga intermediară în transmiterea efectelor somatotrope ale hormonului de creştere. Este deci normal ca hipofiza să aibă un rol în regenerarea hepatică.

Hipofizectomia are drept efect atenuarea regenerării hepatice, în timp ce administrarea extractului total de hipofiză stimulează mitozele şi, prin acestea, însăşi regenerarea hepatică (698).

Regenerarea cozii şi a membrelor la larvele de *Pleurodeles* este frînată sub acţiunea hormonului gonadotrop corial în concentraţiile de 120—240 μg/ml. În acest caz, se produce o epitelializare a rănii, dar nu are loc o regenerare completă nici după 288 de ore (765).

Se poate spune că, în general, întreg sistemul hipotalamo-hipofizar este direct interesat în regenerarea hepatică. Acţiunea acestui sistem este directă în procesele regenerative, favorizînd sinteza acizilor nucleici şi a proteinelor şi, prin aceasta, accelerînd mitozele. Pe de altă parte, sistemul intervine indirect în procesele de restituţie, contribuind la reechilibrarea alterărilor metabolice survenite în urma rezecţiei unui sector important din parenchimul hepatic (1327).

Se pare deci că glanda hipofizară este indispensabilă regenerării la urodele. Schotté (1075) a arătat însă că este posibil ca hormonii şi nervii să acţioneze în strînsă legătură asupra regenerării, în urma transmisiei neurale a stimulilor veniţi de la plagă.

Suprarenala joacă, de asemenea, un rol extrem de important în procesele regenerative. Astfel, suprarenalectomia frînează regenerarea membrelor la amfibii.

Scanned with OKEN Scanner

Adaosul de hormoni suprarenali are efecte diferite asupra mecanismelor regenerative. Folosirea ACTH și a cortizonului după hipofizectomie, care inhibă regenerarea membrelor la *Triton viridescens*, face ca membrul animalului hipofizectomizat să-și recîștige capacitățile regenerative (1085), (1086).

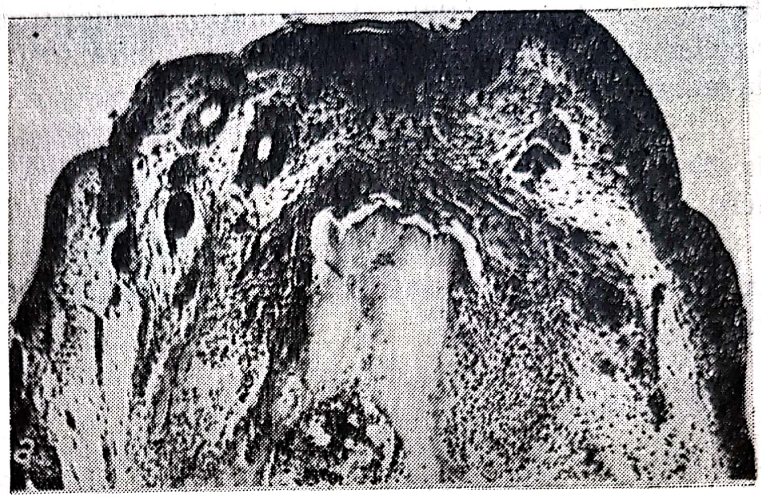
La mamifere însă, efectele sînt diferite. ACTH și cortizonul influențează puternic la iepuri formarea țesutului de granulație (170), (964), (965), (966). În regenerarea degetelor la șoarece (fig. 96), ACTH și cortizonul determină o întîrziere a regenerării epidermice, nu printr-o acțiune strictă asupra migrării și proliferării epiteliale, ci, secundar, prin dereglarea corelațiilor epidermodermale, fapt ce întîrzie formarea unui nou epiderm pe suprafața rănii. Acțiunea acestor substanțe se exercită însă îndeosebi asupra dermului, a cărui regenerare este întîrziată. La acest nivel se observă scăderea numărului și a migrării fibroblastelor, precum și întîrziere în formarea colagenului și în repararea vaselor. Se constată astfel absența regenerării dermului chiar la o lună după lezare. Se stabilește în acest mod susceptibilitatea diferită, la influențele hormonale, a celor două componente ale pielii, epidermul și dermul, după efectuarea plăgii. Se pare că starea hiperadrenală afectează și întîrzie indirect închiderea epidermului, dar afectează serios constituenții dermici și mezodermali (1091). După alți autori (153), glucocorticoizii și ACTH accelerează procesele de diferențiere a celulelor tinere, ducînd la senescența lor precoce, ceea ce determină inhibarea proceselor regenerative. S-a mai constatat că adaosul de extracte suprarenale imobilizează mecanismele regenerării hepatice.

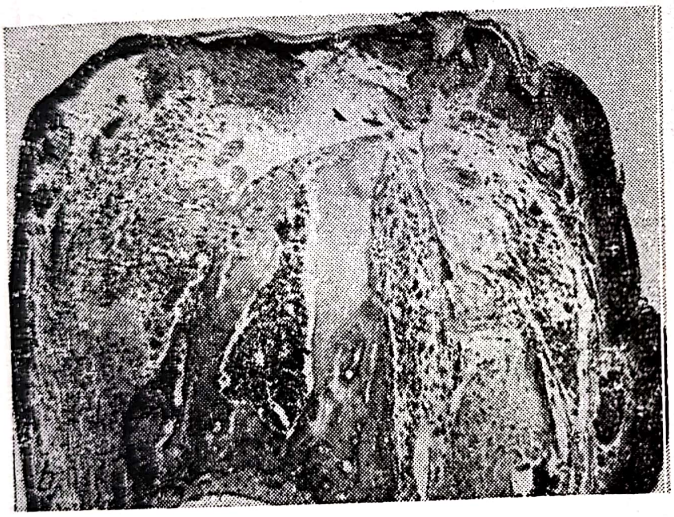
Cu toate că cercetările efectuate conduc la rezultate contradictorii, în sensul că hormonii corticoizi provoacă amplificarea reacției regenerative la vertebratele inferioare și inhibarea reacției regenerative la vertebratele superioare, totuși unii autori (692), (693), (1075), (1084) consideră că corticala suprarenală reprezintă unul din polii axei endocrine hipofizo-suprarenale care ține sub controlul său procesul regenerativ. Sinergismul pituitaro-adrenal ar fi implicat indubitabil, dar nu exclusiv, în procesul de regenerare. Astfel, la larvele de *Ambystoma punctatum*, eliminarea experimentală a sistemului pituitaro-adrenal permite sistemului hipotalamo-hipofizar să asigure edificarea regeneratului de membru.

Deși rolul *tiroidei* în edificarea unui regenerat este secundar, totuși faptul că ea intervine în metabolismul calciului face ca edificarea axului osos al unui membru în regenerare să fie direct subordonată acțiunii acestei glande.

De fapt, hormonul tiroidian nu are un efect specific asupra regenerării. Astfel, ablația tiroidei reprezintă o condiție defavorabilă în regenerarea extremităților amputate ale amfibiilor sau în regenerarea hepatică a mamiferelor (698). Adaosul de tiroidă proaspătă în hrana animalelor cu extremitățile amputate reprezintă, de asemenea, o condiție defavorabilă regenerării acestora. Ingestia de tiroidă conduce la tulburări de asimilație, la apariția de malformații și la inhibiția regeneratului membrului de amfibii (857). În fine, administrarea de tiroxină inhibă procesul regenerativ al mem-

Scanned with OKEN Scanner





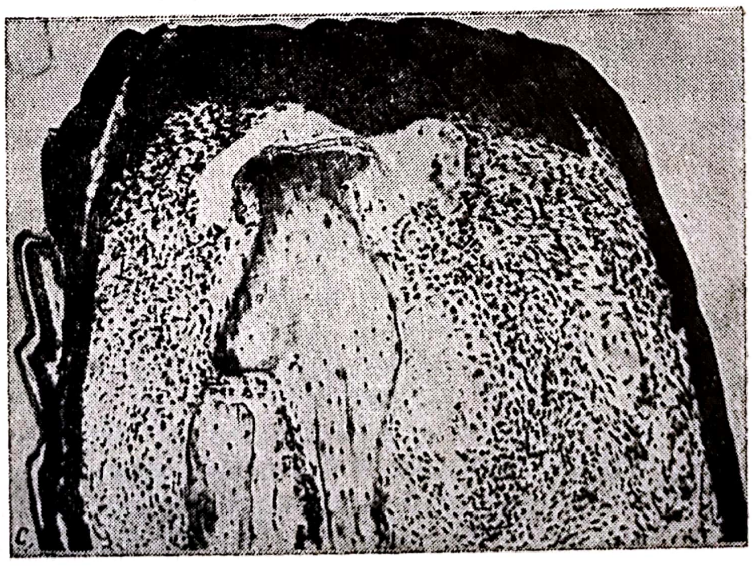


Fig. 96. — Secțiune la nivelul celui de-al treilea deget al șoarecelui (după Schotté și Smith): *a*, la 7 zile de la amputare; *b*, la 7 zile de la amputare după administrarea de cortizon; *c*, la 7 zile de la amputare după administrarea de ACTH.

Scanned with OKEN Scanner

brelor de triton (480). În schimb, administrarea de hormoni tiroidieni accelerează regenerarea hepatică și vindecarea plăgilor cutanate atone la mamifere.

Epifizhormonul, administrat pe cale generală sau prin grefarea epifizei în circulația hepatică, stimulează refacerea ponderală a ficatului la mamifere (710).

În ceea ce privește *glandele genitale*, castrarea inhibă regenerarea hepatică, iar administrarea suplimentară de testosteron favorizează regenerarea hepatică la mamifere.

Scanned with OKEN Scanner

Mecanismele locale ale procesului regenerativ 5

Rolul epiteliului regenerativ

Numeroase experienţe au pus în evidenţă faptul că epiteliul regenerativ exercită o influenţă semnificativă asupra desfăşurării procesului de regenerare. În cele ce urmează ne vom referi la probele care susţin această afirmaţie.

1. Inhibarea acţiunii scufiţei epidermice apicale, fie prin extirpare (407), (723), (1259), fie prin stăvilirea formării ei prin raze ultraviolete (1260), fie prin iradierea ei cu raze X (402), este paralelă cu absenţa formării blastemului la membrele amputate de amfibii sau cu absenţa formării ţesutului de granulaţie la mamifere. Pe de altă parte, blastemul deja format, la care se înlătură epiteliul, nu poate să se diferenţieze, cu toate că complexitatea sa histologică poate augmenta (282), (283), (284), (285), (916). Reacoperirea acestor blasteme denudate printr-un epiteliu heterotrof reactualizează capacitatea de regenerare a membrelor la amfibii (770), (785).

2. Transplantarea scufiţei apicale se poate efectua în cadrul aceleiaşi grupări sistematice. În transplantele dintre grupări sistematice diferite se constată însă rejecţie de grefă (de pildă, transplantarea pielii de la *Rana temporaria* la *R. arvalis*), datorită unui răspuns imunologic (1351). Astfel:

— Transplantarea scufiţei apicale într-o poziţie excentrică conduce la formarea unui blastem excentric şi la creşterea indicelui mitotic în blastemul situat în dreptul scufiţei apicale transplantate, în timp ce la locul de origine a scufiţei transplantate indicele mitotic scade (493).

— La larvele de *Ambystoma talpoideum*, transplantarea scufiţei apicale la baza blastemului de regenerare este urmată de refacerea ei la locul de extirpare şi permite, la locul transplantării, formarea unui membru accesoriu, ceea ce conduce la reduplicarea întregului regenerat (1268).

— Transplantarea scufiţei apicale în regiunea marginii posterioare a membrului, la larvele de *Ambystoma*, conduce la regenerarea unui nou membru.

3. Epiteliul regenerativ are posibilitatea de a induce o regenerare la membrele iradiate prin raze X. Astfel, activitatea morfogenetică a epidermului a fost demonstrată prin transplantarea pielii normale neiradiate a membrului pe coada iradiată cu raze X. În cazul cînd coada a fost amputată dincolo de grefă, ea va putea regenera un nou membru la capătul bontului de amputare (703), (1282). Pe de altă parte, bonturi de membre expuse la acţiunea razelor X pot regenera apendice caudale după transplantarea, la nivelul lor, a pielii provenind de la o coadă neiradiată (1305).

Scanned with OKEN Scanner

4. Inhibarea regenerării care are loc atunci cînd porțiunea terminală, proaspăt amputată, a unui membru de triton adult este introdusă în cavitatea generală (celom) poate fi anulată dacă membrul amputat este mai bătrîn (1—2 zile), deci atunci cînd zona de amputare este epitelializată (398), (399). De aici concluzia că vindecarea epitelială este esențială pentru inițierea regenerării membrului.

După unii autori (1145), (1151), (1154), aceste probe nu sînt absolute, dat fiind că, atunci cînd capacitatea regenerativă a membrului de axolotl este suprimată prin raze X, scufița apicală poate totuși apărea deasupra suprafeței de amputare fără a avea un efect inductor asupra regenerării, iar pe de altă parte este posibilă prezența scufiței apicale în bonturile neregenerative. Este însă de subliniat că aceste cazuri au loc în condiții de regenerare speciale, legate de prezența sau de absența sistemului nervos.

S-a constatat că epiteliul regenerativ joacă multiple roluri în efectuarea procesului de restituție, și anume:

a. Epiteliul are un *rol mecanic*, de acoperire și de protecție a mugurelui regenerativ.

b. În stadiile timpurii ale regenerării, epiteliul are un *rol histolitic* și un rol de fagocitare a detritusurilor celulare, deosebit de abundente în condițiile morfogenezei. Deci servește la fagocitarea particulelor ce rezultă din dezagregarea țesuturilor subiacente histolizate. Proba o constituie experiențele care demonstrează că epiteliul este capabil de a fagocita, în cursul regenerării, coloranții vitali sau cărbunele, injectați sub pielea bontului regenerativ la începutul procesului de regenerare (531), (943), (1151).

Unii autori (1145), (1151), (1154) susțin că epiteliul nu participă decît în histoliza și în fagocitarea țesuturilor plăgii. Persistența unui epiteliu gros (scufița apicală) în stadiile formatoare ale regenerării membrelor la amfibii nu ar exprima decît o continuă și intensificată activitate a unui organ care curăță, prin fagocitoză, detritusurile celulare rezultate din dezagregarea țesuturilor subiacente histolizate, fapt ce nu ar implica un rol morfogenetic sau o altă funcție. Dovezi ar constitui prezența posibilă a scufiței apicale la nivelul bonturilor neregenerative sau faptul că, atunci cînd capacitatea regenerativă a membrului de axolotl este suprimată prin raze X, scufița apicală ar apărea totuși deasupra suprafeței de amputare.

c. Majoritatea autorilor consideră însă că epiteliul regenerativ are o influență semnificativă asupra regenerării organelor externe la amfibii, jucînd un adevărat *rol morfogenetic* în desfășurarea fenomenelor de restituție. Epiteliul are un rol esențial și cauzal, inițiind fenomenul de regenerare. Astfel, determină dediferențierea celulară, migrarea celulelor mezenchimatoase din bont către blastem (celule pe care le atrage și le orientează), agregarea și orientarea acestor celule, directivînd dezvoltarea țesuturilor mezodermice, probabil sub influența unei secreții epiteliale. De asemenea evocă, în țesuturile mezenchimale subiacente, tendințe de diferențiere distală chiar de la începutul regenerării, distalizarea fiind interpretată în funcție de dediferențierea impusă de epiteliu. Epiteliul determină deci de la începutul regenerării direcția dezvoltării țesuturilor mezodermice. În sfîrșit, determină proliferarea apicală a blastemului

Scanned with OKEN Scanner

și diferențierea apicală a regeneratului care începe din stadiul de con timpuriu (310), (311), (772), (803), (840), (916), (1010), (1016), (1026), (1151), (1187), (1245), (1256), (1259), (1260), (1262), (1263), (1264), (1265), (1267), (1280), (1281), (1282), (1283), (1294).

d. Prin însăși structura sa, epiteliul regenerativ oferă toate condițiile pentru accesul fibrelor nervoase în spațiile intercelulare epidermale în cursul regenerării normale, fibrele nervoase în creștere regenerativă invadînd țesuturile plăgii, precum și epiteliul regenerativ. S-a constatat că numai fibrele senzitive pătrund în epiteliu, nu și cele motorii (1106), (1129), (1134), (1154), (1230), (1262). Formarea epiteliului conduce astfel la orientarea regenerării nervilor regeneratului. Grație acestui fapt, *epitelializarea ar avea o influență asupra declanșării activității nervoase în procesul regenerării* (1287).

Prin urmare, epiteliul regenerativ joacă un rol important în inițierea și în formarea tînărului blastem, ultimul posedînd o organospecificitate, cu condiția ca părțile epiteliale ale regeneratului să fie intacte.

Epidermul regenerativ nu este întotdeauna singurul epiteliu competent în determinarea regeneratului. Astfel, procesele de regenerare nu au loc numai în prezența scufiței apicale, lipsită de membrană bazală și de continuitate a membranei adepidermale, ci și epiteliul neregenerativ al unei zone neutre poate interveni în formarea unui regenerat (916). FABER (307), transplantînd blasteme de membre amputate sub pielea flancului de axolotl, a obținut membre al căror epiderm provine din epidermul flancului. S-a constatat că transplantarea pielii abdominale pe membrul amputat provoacă un ușor procent de regenerare, exprimat prin apariția de degete unice (641), (1281). Transplantele din pielea cozii pe bontul membrului anterior amputat duc la formarea unei structuri caudiforme (375).

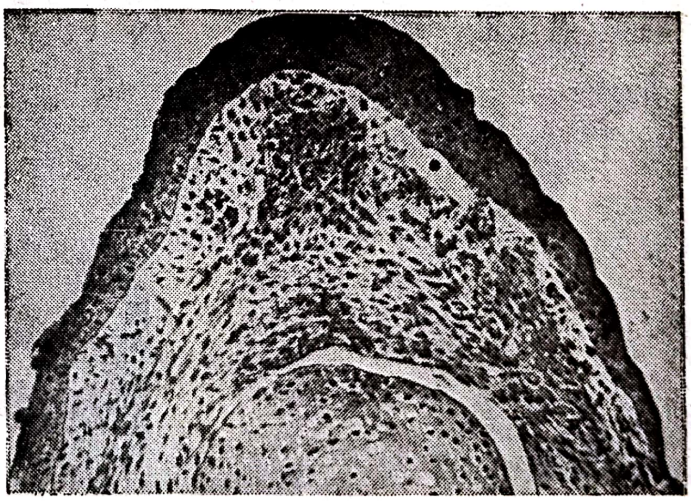


Fig. 97. — *Ambystoma macrodactylum*. Blastem dezvoltat în membrul anterior drept, la 7 zile după reamputare, în urma unei grefe de piele a capului (după Thornton).

Există însă observații experimentale care nu duc la rezultate conforme celor menționate. Astfel, transplantarea pielii capului pe bontul unui membru amputat al larvelor de *Ambystoma talpoideum* nu conduce la inițierea unei regenerări (282), (1263). Înlocuirea epidermului regenerativ prin pielea capului sau a spatelui inhibă regenerarea membrelor la axolotl (282), (838).

Scanned with OKEN Scanner

Fig. 98. — Larvă premetamorfotică de *Ambystoma talpoideum*, după reamputare în urma unei grefe de piele a capului (după Thornton): *a* și *b*, la 7 zile; *c*, la 9 zile; *d*, la 24 de zile; *e*, la 30 de zile.

În numeroase cazuri, pielea neutră desfășoară o competență regională în regenerare. Astfel, grefele de piele a capului, a corpului sau a cozii neiradiate de axolotl permit regenerarea membrelor amputate și iradiate ale aceluiași animal (1285), (1305); grefele de piele a membrelor neiradiate permit regenerarea cozii iradiate, ceea ce ar demonstra că distrugerea influenței reglatorii a epidermului afectat prin razele X poate fi refăcută prin grefe de piele (640), (671), (703), (1108), (1263), (1281), (1304), (1305), (1306). În alte cazuri (282), (640), (838), (1263), pielea unei regiuni neutre (cap, spate, abdomen) la axolotl nu inițiază regenerarea membrului amputat și iradiat, restaurarea regenerării avînd loc doar în 20% din cazuri, cînd procesul regenerativ este frecvent hipomorfic, fapt ce ține de vîrsta și de specia folosită în experiment (640).

Dacă inhibarea regenerării prin transplantul de epiteliu neregenerativ este reală la *Ambystoma talpoideum*, ea nu este evidentă la larvele și la adulții de *A. macrodactylum*, unde grefele permit regenerarea membrelor (1263) (fig. 97—99). Aceste observații conduc la concluzia că procesul regenerativ dependent de epiteliu depinde de vîrsta și de specia întrebuințată în experiment.

Se poate spune, în concluzie, că epiteliul regenerativ, care se dediferențiază (epiteliul membrelor), are o acțiune diferită de cea a epiteliului neregenerativ, care nu se dediferențiază (epiteliul capului), de unde acțiunea sa diferită (1263).

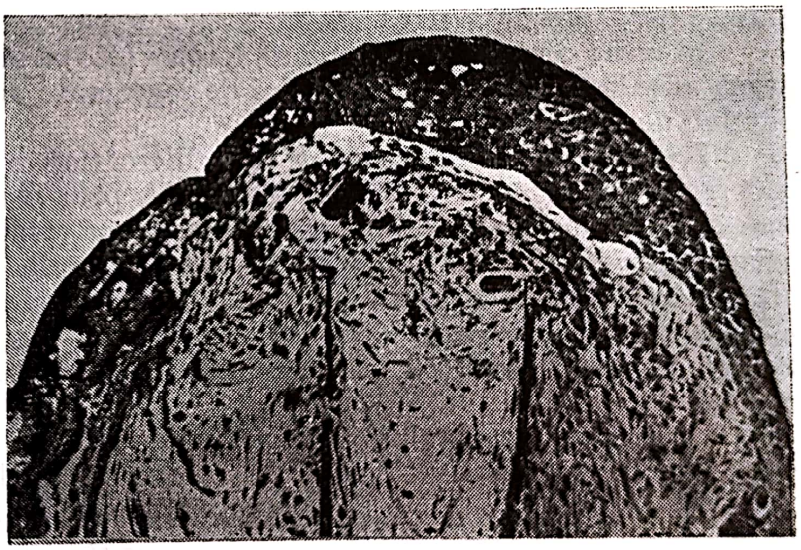


Fig. 99. — *Ambystoma macrodactylum* juvenil la 6 zile după reamputare în urma unei grefe de piele a capului (după Thornton).

Rolul și potențialitățile blastemului de regenerare

Blastemul de regenerare este o formațiune absolut indispensabilă restituției organelor externe lezate la amfibii, celulele sale nediferențiate și pluripotente avînd o contribuție esențială în formarea și în organizarea regeneratului (434).

În analiza rolului și a potențialităților blastemului în procesul regenerativ trebuie pornit de la existența a două mecanisme fiziologice diferite privind determinarea regeneratului, și anume *determinarea morfogenetică* și *determinarea histogenetică*. De primul mecanism depind dediferențierea, creșterea, proliferarea și interacțiunile dintre elemente, iar de al doilea diferențierea.

Scanned with OKEN Scanner

Primul mecanism are un caracter cantitativ, pe cînd al doilea un caracter calitativ. Există deci potențialități morfogenetice și histogenetice, care au o independență cronologică.

Potențialitățile histogenetice definite ale blastemului nu sînt însă suficiente pentru a explica *organizarea* elementelor blastemale conform unui plan structural corespunzător celui al organului amputat. Astfel, la urodele, blastemul unui membru anterior și al unui membru posterior are aceleași elemente histologice, aceleași potențialități histogenetice, dînd naștere la aceleași țesuturi, dar organizarea este diferită. Deci, fiecare blastem are o putere de organizare specifică *(potențialități morfogenetice)*, care este reală sau virtuală, fapt pus în evidență fie în regenerarea normală, fie în cea experimentală.

Rezultă că blastemul este un aglomerat de celule nediferențiate, care nu sînt omnipotente, ca și celulele embrionare, dar care posedă potențialități multiple, dintre care unele se evidențiază în regenerarea normală, iar altele numai în experiment, revelînd *puterea de autodiferențiere* a blastemului.

Se cunoaște astăzi cu certitudine că blastemul de regenerare constituie un subsistem ce dispune atît de potențialități multiple ale celulelor sale dediferențiate, în sensul capacității lor de a evolua în diferite direcții, cît și de potențialități specifice ale celulelor sale pe cale de diferențiere. El este deci capabil de a evolua de la începutul dezvoltării în direcții diferite, potențialitățile sale morfogenetice virtuale fiind mai largi decît potențialitățile morfogenetice reale. Rezultă că potențialitățile regenerative ale blastemului sînt mai extinse decît prestația sa obișnuită.

În urma cercetărilor efectuate, LAGAN (625) a stabilit că blastemul acționează asupra desfășurării procesului de regenerare datorită unei influențe inductive de care dispune.

Testarea potențialităților de autodiferențiere ale blastemului a fost făcută prin *extirparea* elementului blastemal, prin *inhibarea elementelor blastemale în urma folosirii hormonilor*, prin *iradierea* țesutului blastemal, prin *grefarea blastemului* în diferite regiuni ale corpului, prin *folosirea atomilor marcați*, prin *culturi in vitro* de celule blastemale, precum și prin *injectarea de suspensii ale celulelor blastemale disociate*. Toate aceste experiențe au demonstrat *puterea de autodiferențiere* a blastemului în raport cu condițiile la care este supus.

Extirparea elementului blastemal conduce la aceleași efecte — de inhibare a procesului regenerativ — ca și denudarea epiteliului bontului regenerativ.

S-a mai constatat că epitelializarea plăgii poate fi provocată, fără o regenerare consecutivă, atunci *cînd se folosește hormonul gonadotrop corial*, care acționează inhibitor asupra elementelor mezenchimatoase ale blastemului (765), (766).

Scoaterea din complex a elementelor blastemale prin *iradierea* cu raze X a țesuturilor blastemale stopează desfășurarea proceselor regenerative. Astfel, o labă de urodele iradiată, înainte de amputare, prin doze apropiate de raze X este ireversibil inhibată în ceea ce privește regenerarea ei (143), (1197). Atunci cînd se iradiază cu raze X, înainte de formarea blastemului, dar după amputare, un membru de urodele, se constată că are loc o regresiune puternică a membrului; dacă iradierea se efectuează în timpul formării blastemului, regresiunea membrului este mai slabă (163).

Metoda *transplantelor de blastem* a permis stabilirea unor date foarte importante privind puterea de autodiferențiere a blastemului. Astfel, transplan-

Scanned with OKEN Scanner

tele blastemelor tinere și nediferențiate în regiuni corporale neutre au condus la rezultate contradictorii.

Unii autori au stabilit că transplantarea blastemului pur de membru pe capul sau pe spatele unui organism de aceeași specie, regiuni unde nu există posibilități pentru formarea de membre, teritoriul respectiv fiind situat în afara teritoriului de regenerare a membrului, conduce la formarea de structuri parțiale distale (labă). Astfel, la *Salamandra maculosa*, la axolotl și la *Triturus cristatus*, blastemele tinere transplantate pe flanc pot să se diferențieze în multe cazuri, predominant în structuri de labă. Blasteme de membre de axolotl denudate de epiderm și de bontul regenerativ și transplantate pe flanc produc numai structuri distale sau structuri distale asociate cu elemente scheletice proximale, dar niciodată numai structuri proximale. De aici concluzia că există tendințe autonome de diferențiere distală în cea mai mare parte a blastemului tînăr regenerativ și că blastemul nediferențiat este incapabil de a forma structuri proximale dacă nu formează, mai întîi, structuri distale (107), (108), (237), (304), (767), (772), (879), (1265). Atunci cînd masele de blastem transplantate sînt mai voluminoase, pot apărea și structuri proximale (767).

Alți autori consideră că, în transplantele de blastem tînăr, părțile proximale dau naștere exclusiv la structuri proximale, pe cînd părțile distale dau naștere exclusiv la structuri distale, blastemele tinere de membru putîndu-se diferenția normal *(Herkunftsgemäss)* în grefe heterotopice (884), (889), (899), (1207), (1348).

Alți cercetători susțin că în transplantare are loc o diferențiere exclusiv proximală, mezenchimul mugurelui timpuriu realizînd, atunci cînd este transplantat în absența altor țesuturi, numai structuri proximale, tendințele primare de diferențiere ale mezenchimului blastemal fiind de origine proximală (304), (306), (307), (308), (311). S-a constatat că, atunci cînd blastemul de membru anterior nediferențiat de axolotl a fost denudat de epiteliul său și a fost grefat în cantitate mare (4 blasteme la un loc) în musculatura flancului, acoperită de epidermul și de dermul flancului, nu se produc structuri distale, ci numai structuri proximale cartilaginoase (874). Considerîndu-se că grefele au fost făcute într-o orientare întîmplătoare, s-a ajuns la concluzia că există capacități morfogenetice intrinsece ale mezenchimului blastemal, capacități autonome de influențele organizatoare ale epiteliului și ale bontului de amputare (772).

În sensul ultimei ipoteze pledează și faptul că, în ontogeneza amfibiilor și a păsărilor, mezodermul mugurelui timpuriu al membrului realizează, prin autodiferențiere, structuri proximale atunci cînd este transplantat în absența epiteliului (304), (311).

Pe de altă parte, blastemul de regenerare al membrelor anterioare ale larvelor de *Ambystoma*, implantat în înotătoarea dorsală a gazdei adulte, dezvoltă la 6—15 zile după amputare doar un schelet, fără a regenera mușchii respectivi (879) (fig. 100).

Transplante de blasteme caudale tinere care, separat, nu sînt capabile de diferențiere, transplantarea de blastem caudal producînd regenerate lip-

Scanned with OKEN Scanner

site de organe axiale (670), pot forma structuri caudale atunci cînd sînt transplantate într-o agregare de mai multe blasteme (887), (889).

Mezodermul izolat al înotătoarei caudale pe cale de regenerare, atunci cînd este transplantat sub piele, dă naștere unor structuri caudiforme lipsite de organele axiale caudale (509).

Fig. 100. — Transplant de blastem de 11 zile în înotătoare. Se evidențiază prezența cartilajului în absența mușchilor scheletici maturi (după Pietsch).

S-a mai constatat că grefe de țesut blastemal caudal sub pielea urodelelor cu coada amputată determină o evidentă accelerare a procesului regenerativ al cozii (1300).

Pe de altă parte, merită a fi semnalate experiențele în care s-au făcut transplantări de blastem de membru pe coadă, transplantări de blastem de membru pe membru și transplantări de blastem de coadă pe membru. S-a stabilit că blastemul tînăr de membru implantat la baza cozii dă naștere unui apendice caudiform.

La larvele de *Ambystoma maculatum*, STOCUM (1207) a observat că transplantarea blastemului din diferite stadii ale dezvoltării labei pe cale de regenerare permite formarea elementelor scheletale ale tuturor regiunilor distale atunci cînd transplantul se face pe un membru amputat (fig. 101). Același autor a mai transplantat jumătăți de blasteme distale sau de blasteme proximale de labă, astfel încît dediferențierea și regresiunea să fie minimale prin restrîngerea formării epiteliului plăgii. În aceste condiții, jumătățile distale dau naștere la structuri distale, pe cînd jumătățile proximale pot forma toate structurile pierdute prin amputare.

Cînd blastemul de coadă, indiferent de gradul său de dezvoltare, este transplantat în membre amputate (670), (889), vor lua naștere, după transplantare, regenerate asemănătoare cozii *(tail-like)*, lipsite de organe axiale.

Prin experiențele de transplantare s-a constatat că blastemele tinere și nediferențiate dau naștere, în transplant, unor structuri blastemale și unei diferențieri conforme locului în care sînt transplantate *(Ortsgemäss)*. În schimb,

Scanned with OKEN Scanner

blastemele mai vîrstnice pot produce regenerate conform originii lor. Blastemul de membru produce regenerat de membru atunci cînd este transplantat la nivelul cozii, iar transplantul de blastem vîrstnic de coadă produce regenerate caudale atunci cînd este transplantat la nivelul cozii. Astfel, la *Triton cristatus*, schimburile dintre blasteme vîrstnice produc regenerate conform

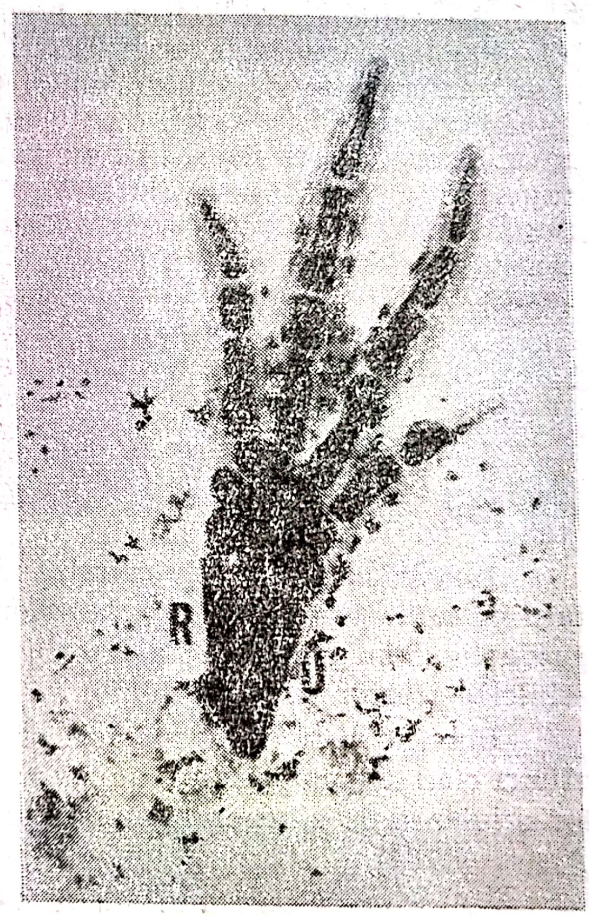


Fig. 101. — Regenerat de 25 de zile format dintr-un transplant din stadiul conic al unei larve de *Ambystoma*. Se constată morfogeneza normală a elementelor scheletale (după Stocum). *R*, radius; *U*, cubitus.

originii lor *(Herkunftsgemäss)*. Blastemele mai vîrstnice, începînd cu stadiul de con, conţin primordii separate şi discrete, dar deja determinate (1207).

Din toate aceste date rezultă că blastemul constituie, pînă în stadiul său conic (nediferenţiat), un sistem de autodiferenţiere (310), (768), (879), supus diferitelor influenţe care se exercită asupra lui. Odată stadiul conic depăşit, nici o influenţă nu mai poate modifica determinarea stabilită de sistemul de autodiferenţiere al blastemului.

Puterea de autodiferenţiere a blastemului este probată şi prin transplantele sale efectuate în diferite cavităţi corporale. Astfel, transplantarea blastemului mai vîrstnic (stadiul conic de 7 zile) al membrelor larvelor de *Xenopus* (stadiul 52) în ventriculii creierului anterior al larvelor conduce la o creştere şi la o diferenţiere normală a blastemului, deci la o dezvoltare autonomă a blastemului mai vîrstnic. Structura regenerativă a membrelor obţinute depinde de faptul dacă blastemul transplantat provine din regiunea femurală sau din regiunea tibială amputată, blastemele din regiunea tibială dînd regenerate mai bine dezvoltate (563), (564). Blastemele totale de membru de la exemplarul tînăr de *Siredon mexicanum*, transplantate în ventriculii creierului acestui animal, se dezvoltă foarte lent, producînd o acumulare mică de celule blaste-

Scanned with OKEN Scanner

male, acumulare care depinde de faptul dacă blastemul a provenit din regiunea femurală sau din cea tibială (564).

Transplantarea blastemului în globul ocular lipsit de cristalin la speciile la care cristalinul regenerează conduce la formarea de structuri cristaliniene sub influența organizatoare a țesuturilor înconjurătoare (1076).

Implantarea de blasteme tinere nediferențiate de membru de axolotl (7—10 zile) în cavitatea generală (celom) duce la o proliferare a țesuturilor fără o diferențiere ulterioară, producîndu-se tumori atipice, care infiltrează viscerele și peretele corpului gazdei, ceea ce confirmă natura indiferentă a blastemului tînăr. Procesul este asociat cu o augmentare a activității enzimatice a acestor transplante. Implantarea de blasteme diferențiate vîrstnice conduce însă la formarea de regenerate asemănătoare membrelor, regenerate care conțin și elemente scheletale (1164), (1167).

Implantarea, imediat după amputare, a blastemelor tinere de membru anterior de triton în cavitatea generală a adultului este urmată de o inhibare a regenerării. Dacă intervenția se face însă la cîteva zile după amputare, regenerarea are loc (399).

La *Xenopus*, condiții speciale existente la nivelul celomului permit desfășurarea regenerării membrului implantat la nivelul cavității generale (875) (vedeți fig. 71).

Blastemele tinere de membre de salamandră sau de triton, transplantate în cavitatea generală a larvelor lor, conduc la proliferarea țesuturilor, gazda fiind incapabilă de a resorbi grefa; de remarcat natura indiferentă a celulelor acestor țesuturi (1353).

Blastemele tinere de membre de axolotl, care proliferează fără diferențiere atunci cînd sînt implantate în cavitatea generală, nu recîștigă potențialitățile lor originare de a regenera membrul dacă sînt transplantate la locul lor de origine (1165).

Înlocuirea blastemului de regenerare printr-un alt țesut nu permite regenerarea organului extern respectiv. Astfel, dacă la membrul iradiat de axolotl se înlocuiește blastemul printr-un țesut muscular, regenerarea nu are loc (1435).

Rezultate importante au fost obținute și prin studiul capacității de dezvoltare a celulelor provenite din *blastemul disociat al membrelor și al cozilor* pe cale de regenerare. Aceste experiențe, care s-au bazat pe injectarea sau pe implante de homogenate sau pe suspensii de celule blastemale, au condus la concluzii valoroase privind rolul blastemului.

Astfel, în urma unei iradieri cu raze X, care suspendă capacitatea regenerativă a țesuturilor implantate (fig. 102—104), injectarea de celule blastemale disociate neiradiate, provenite din coada sau din membrul unui animal neiradiat, conduce la restabilirea potențialităților regenerative ale membrului amputat și iradiat. Homogenatele de țesut blastemal de coadă induc un organ caudiform, iar homogenatele de țesut blastemal de membru induc regenerarea unei labe. Rezultă deci că, păstrîndu-și specificitatea de organ, homogenatele injectate la animalele cu extremitățile iradiate și amputate devin sursa refacerii părților pierdute (490), (625), (975), (993), (1008), (1162), (1163).

Scanned with OKEN Scanner

S-au efectuat experiențe pe larve și pe adulți de salamandră, pe axolotl alb și negru de 2 ani și pe *Xenopus laevis*, injectîndu-se, după amputarea unui membru iradiat, suspensii celulare blastemale din membrul sau din coada

Fig. 102. — Membru de axolotl de 1—2 ani după amputarea membrului iradiat. Se observă inhibarea regenerării (după Skowron și Roguski).

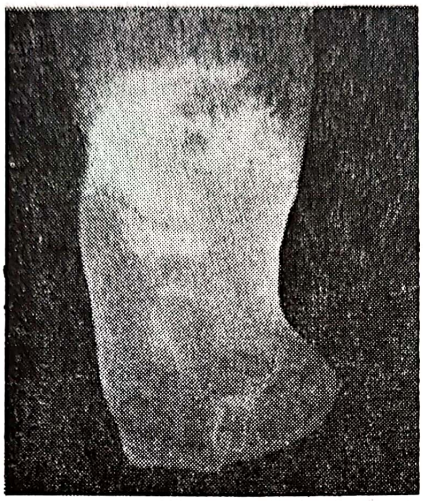


Fig. 103. — Dezvoltarea regeneratului *tail-like* la 3 luni după amputare (după Skowron și Roguski).

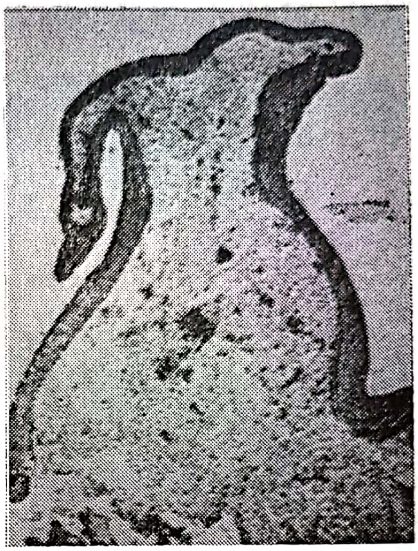


Fig. 104. — Secțiune histologică prin regeneratul *tail-like* (după Skowron și Roguski).

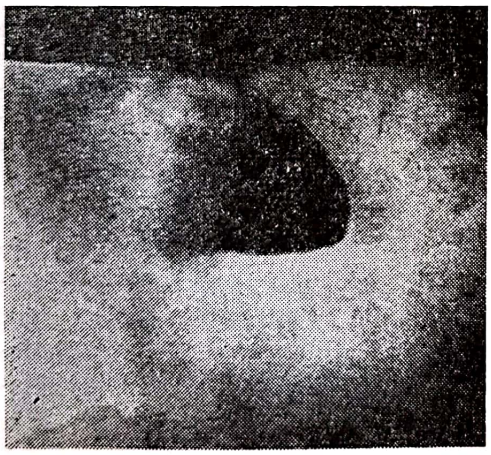


Fig. 105. — Regenerat *tail-like* de axolotl alb injectat cu suspensie celulară preparată de la animale negre (după Skowron și Roguski).

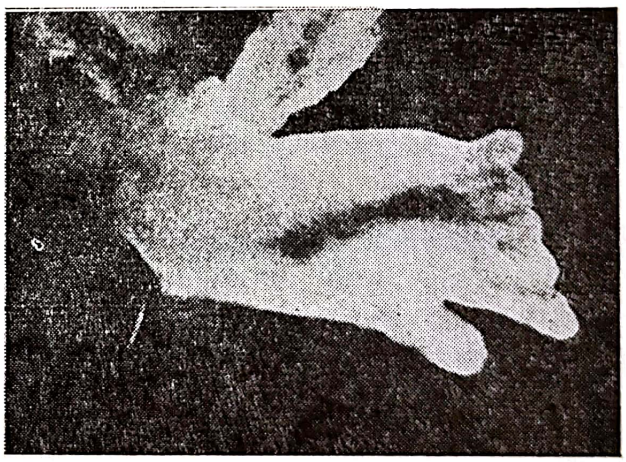


Fig. 106. — Blastem de 10 zile de axolotl negru implantat în membre (mușchi) de axolotl alb iradiate, la 3 săptămîni după implantare (după Skowron și Walknowska).

neiradiată a acestor animale în regenerare (fig. 105—108). În felul acesta s-au obținut regenerate ale membrelor iradiate, constatîndu-se că:

1. Detaliile externe structurale se manifestă independent de structurile interne ale regeneratelor.

Scanned with OKEN Scanner

2. Capacităţile de dezvoltare ale celulelor blastemului diferenţiat (din membrul disociat) sînt mai mari decît cele ale celulelor blastemului nediferenţiat, fapt care se manifestă prin producerea de elemente cartilaginoase şi scheletale în regeneratele membrelor iradiate la care s-au implantat celule blastemale diferenţiate şi prin absenţa acestor elemente acolo unde s-au implantat

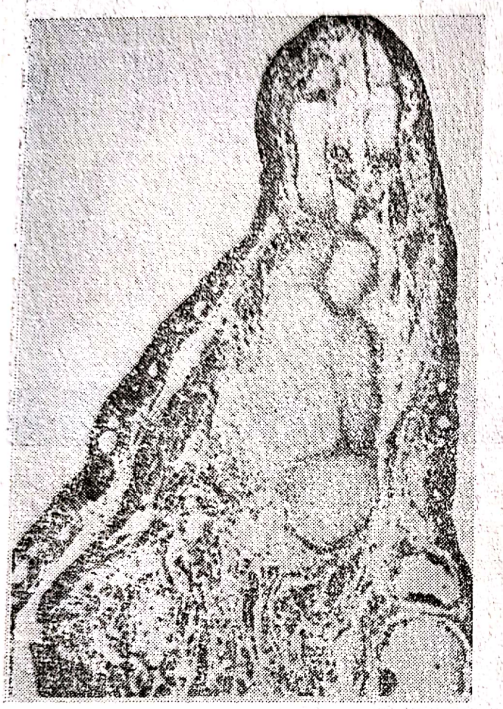


Fig. 107. — Ţesuturi ale membrului larvar de salamandră, disociate şi implantate în membrele regenerative ale salamandrei adulte. Regenerare de 3 luni. Diferenţiere scheletală completă (după Roguski).

Fig. 108. — Ţesuturi ale cozii larvare de salamandră, disociate şi implantate în membrele regenerative ale salamandrei adulte. Procesul de diferenţiere este slăbit în regeneratul de 3 luni (după Roguski).

celule blastemale nediferenţiate. De aici rezultă că celulele blastemului diferenţiat al membrului neiradiat prezintă o organospecificitate în structura regeneratului indus de ele, regeneratul conţinînd toate elementele structurale normale. Celulele blastemale nediferenţiate manifestă însă doar o organospecificitate parţială, ele neinducînd apariţia elementelor cartilaginoase şi scheletale, ci numai posibilitatea de regenerare a degetelor.

3. Capacităţile de dezvoltare ale celulelor din disociatele de blastem ale cozii sînt mai înalte decît cele ale ţesuturilor diferenţiate ale acestui organ. Aceasta se manifestă prin producerea de primordii de rudimente musculare metamerice din celulele blastemale, proprietate pe care nu o au celulele diferenţiate ale cozii.

4. Celulele blastemului nediferenţiat al cozii manifestă o organospecificitate parţială, în sensul că induc structuri cu părţi componente distincte (segmente caracteristice cozii şi segmente caracteristice membrului). Într-

adevăr, aceste regenerate sînt formate din schelet axial înconjurat de țesut lax similar celui caudal, dar și din cartilaje dispuse seriat, ca în falangele digitale.

5. Organospecificitatea se manifestă de asemenea după implantarea celulelor blastemale ale membrelor sau ale cozii larvelor de salamandră în membrele amputate ale salamandrelor adulte neiradiate, care au o putere mai slabă și mai limitată de regenerare (1162), (1163).

Avînd în vedere că țesuturile iradiate sînt lipsite de capacitate de regenerare, rezultă că fenomenele regenerative constatate sînt datorate exclusiv celulelor blastemale implantate.

Dacă implantarea de blastem (de 2 săptămîni) provenit din coada de axolotl nu arată nici o legătură a ratei regenerative cu volumul implantului, în schimb injectarea de homogenate blastemice indică creșterea și durata ratei de creștere a regeneratului (1166).

Dacă la cîteva zile de la implantarea de blastem tînăr (7 zile) de membre de axolotl în cavitatea generală și după unul sau două pasaje de la disocierea celulelor și implantarea lor în membrele posterioare iradiate se amputează membrele, nu se produce regenerarea lor, dar caracterele celulelor implantate, care proliferează, rămîn conform originii lor. Ele nu cîștigă însă proprietatea, conformă posibilității lor originare de dezvoltare, de a regenera membrele. Celulele blastemale au deci capacități de dezvoltare modificate ireversibil sub influența mediului din cavitatea generală (1165).

Organospecificitatea celulelor cozii larvelor de salamandră implantate în membrele animalelor adulte se manifestă diferit. Dacă aceste membre au fost iradiate și au o capacitate slabă de regenerare, structura regenerativă obținută nu poate fi pusă numai pe seama celulelor implantate. Alături de celulele implantate, regeneratul conține și celule regenerative ale membrului, organospecificitatea celulelor caudale concretizîndu-se în limitarea distinctă a morfogenezei elementelor scheletice ale labei (1008). Ca și în alte experiențe (625), această acțiune cauzează dezvoltarea regeneratului, manifestînd o slabă tendință de aranjament axial al elementelor cartilaginoase. Diferențele în potențialul de dezvoltare al celulelor incluse în aceste regenerate întîrzie rata de diferențiere histologică a cartilajului. La 3—4 luni de la amputare, regeneratul conține puține elemente cartilaginoase învelite de mase de celule nediferențiate. De asemenea, după cîteva luni de la amputare se notează prezența în regenerat a unui mare număr de celule nediferențiate, provenite din amestecul de celule caudale și celule ale membrului. De aceea, se poate trage concluzia că inhibarea morfogenezei și a diferențierii este consecința unei interacțiuni între celulele care diferă între ele prin caracterul propriei lor diferențieri organice primare.

Blastemele de membre posterioare triturate și transplantate în creierul mormolocilor de *Xenopus* sau sub pielea capului lor conduc la formarea de cartilaj. Dezvoltarea acestor grefe este însă mult mai lentă decît cea a grefelor de blastem total. Astfel, în anumite grupe de animale se dezvoltă structuri *cyst-like*. Blastemele de membru triturate ale larvelor de *Xenopus*, lipsite de epiteliu, produc, atunci cînd sînt implantate în ventriculii cerebrali, celule blastemale care se diferențiază în celule cartilaginoase, fără să apară structuri *cyst-like*; rezultă că chisturile sînt probabil de origine epitelială.

Cele mai interesante constatări cu privire la potențialitățile blastemului au fost făcute în urma *marcajului acestuia prin substanțe radioactive*.

Scanned with OKEN Scanner

Astfel, FABER (304), (305), (306), (307), (308), marcînd cu carbon radioactiv blastemul membrelor regenerative de *Ambystoma* în cele cinci stadii succesive de formare și urmărind marcajul, fie *in situ*, fie în transplante de blastem sau de părți blastemale, în flancul animalelor de aceeași specie, a constatat că:

— Amputarea unui membru produce o dediferențiere a țesuturilor bontului, iar celulele dediferențiate emigrate din bont formează primordiul blastemului tînăr (componenta mezenchimală a blastemului).

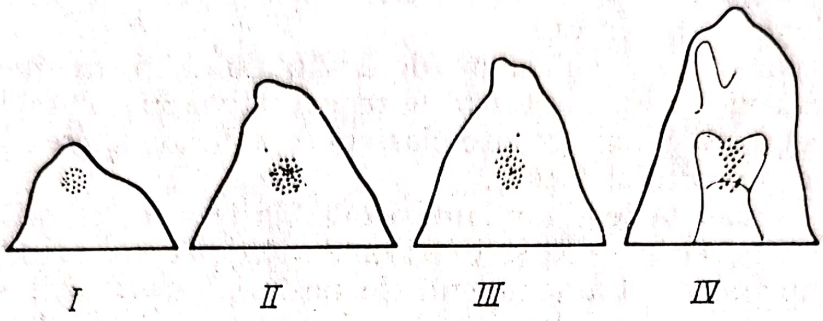


Fig. 109. — Situația marcajelor de carbon inserate în mezenchim în vîrful blastemului care se dezvoltă normal în bontul regenerativ (după Faber).
I—IV, stadii de regenerare succesive.

— Componenta mezenchimală a blastemului augmentează, *in situ*, nu atît prin imigrarea celulelor din bont, ci printr-o proliferare ce are loc începînd de la vîrful regeneratului înspre baza sa, cea mai apicală regiune a blastemului formînd continuu noi pături mezenchimale, care se deplasează spre bază. Marcajul de carbon introdus la nivelul apical al blastemului tînăr se regăsește, succesiv, tot mai înspre bază (spre antebrat și spre brat). În consecință, blastemul crește prin proliferare apicală și cea mai mare parte a mezenchimului blastemal tînăr este destinată să formeze porțiuni proximale. Părțile cele mai distale ale membrului sînt formate deci, la nivelul vîrfului regeneratului, cel mai tîrziu.

— Aceeași constatare se notează și în transplantele de blastem marcat. Atunci cînd marcajele de carbon sînt introduse în blastem înainte de transplantarea acestuia, ele se vor regăsi după transplantare la o distanță din ce în ce mai mare de porțiunea apicală, în transplantul diferențiat (fig. 109).

— Celulele dediferențiate mezenchimale ale blastemului tînăr au astfel *potențialități autonome de diferențiere a structurilor distale*, dovadă că transplantarea în flanc a blastemului tînăr, care începe să prezinte o diferențiere, dar care se dediferențiază după transplantare, este urmată de formarea de structuri exclusiv distale.

Cercetări efectuate prin folosirea marcajului cu sulfat de albastru de Nil (1153) (fig. 110 și 111) au stabilit că marcarea celulară este distribuită proximodistal de-a lungul axului longitudinal de regenerare, mișcările celulare fiind predominant axiale. Cea mai mare parte a regeneratului final este format din regiunile ventrale, posterioare și adiacent centrale ale blastemului tînăr. Aceste arii dau naștere degetelor și labei, precum și părții distale a antebrațului.

Din toate datele prezentate reies o serie de concluzii teoretice, și anume:

Scanned with OKEN Scanner

1. S-a pus întrebarea dacă diferenţierea regeneratului este numai o diferenţiere spontană (autodiferenţiere), adică dacă potenţialităţile morfogenetice ale regeneratului depind doar de blastem, nefiind corelate cu influenţe venind de la bontul regenerativ sau de la epiderm, sau dacă diferenţierea regeneratului este o diferenţiere provocată, în care potenţialităţile morfogenetice ale blastemului sînt determinate de interrelaţiile blastemului cu epiteliul regenerativ şi cu ţesuturile bontului de amputare.

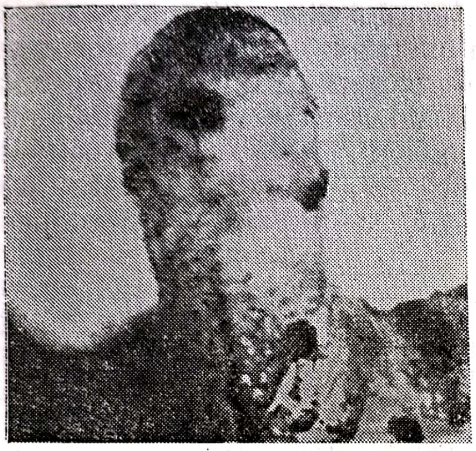


Fig. 110. — Regenerat tînăr al membrului de triton, văzut de pe faţa ventrală. Se observă locul marcajului cu sulfat de albastru de Nil (după Singer, Ray şi Peadon).

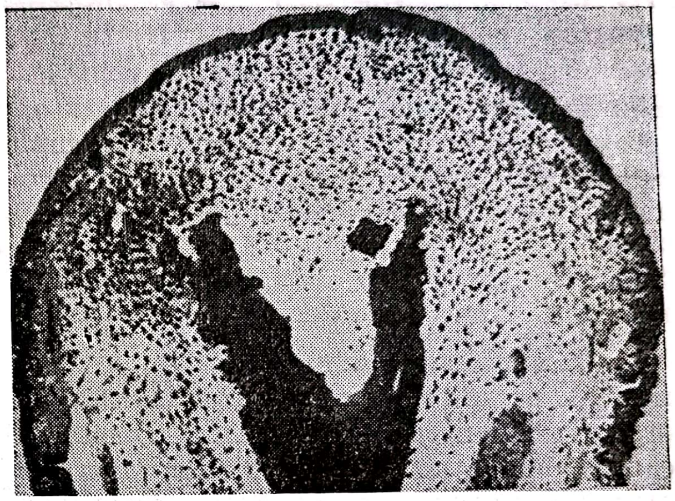


Fig. 111. — Secţiune histologică prin regeneratul din figura 110. Se constată constituţia predominant mezenchimală a blastemului (după Singer, Ray şi Peadon).

De la bun început se poate spune că blastemul posedă o serie de potenţialităţi virtuale, dintre care numai unele se valorifică *in vivo*, altele putînd fi relevate doar prin experiment (108), (441). Proprietăţile virtuale ale blastemului au fost intuite de WEISS (1382), (1383), (1384), care a arătat că celulele blastemale ale membrelor la amfibii, celule care provin din ţesuturile unui bont regenerativ lipsite de elemente scheletice, dau naştere părţilor scheletice ale regeneratului; de aici concluzia că blastemul este capabil să inducă toate părţile regeneratului, chiar dacă acestea lipsesc în bontul regenerativ.

2. Se pare că originea şi vîrsta unui transplant, precum şi locul său de transplantare au o deosebită importanţă în ceea ce priveşte dezvoltarea regeneratului. De aceste condiţii ar depinde punerea în evidenţă a potenţialităţilor virtuale şi reale ale blastemului regenerativ (563).

Există astfel o deosebire certă între comportamentul blastemelor tinere (nediferenţiate) şi al celor vîrstnice (diferenţiate) privind diferenţierea lor în transplant. Capacitatea de dezvoltare a celulelor care provin din blasteme diferenţiate de membre, aşa cum s-a demonstrat experimental, este mai mare decît cea a celulelor care provin din blasteme nediferenţiate. Aceasta se manifestă, pe de o parte, prin realizarea de elemente osoase, formate după inhibarea blastemului prin raze X, în urma implantării de celule blastemale diferenţiate. Celulele provenind din blastemele nediferenţiate de membru nu au această calitate. Astfel, transplante de blasteme întregi de membru de triton, implantate în creierul larvelor de *Triton alpestris*, produc doar o mică acumu-

Scanned with OKEN Scanner

lare de celule nediferențiate, dar nu produc celule blastemale sau cartilaginoase. În acest fel nu apar decît cantități mari de țesut conjunctiv. Blastemele de coadă sau de membru transplantate la tritonii adulți nu se dezvoltă (564). Pe de altă parte, capacitatea de dezvoltare a blastemelor nediferențiate ale cozii este mai mare, atunci cînd sînt transplantate, decît cea a blastemului provenit din țesuturile diferențiate ale acestui organ, fapt care se manifestă prin producerea unor primordii metamerice de rudimente de mușchi în blastem. Or, celulele țesuturilor diferențiate nu prezintă această proprietate atunci cînd sînt transplantate.

În fine, s-a mai constatat că celulele blastemului diferențiat de membre sau de coadă manifestă o specificitate de organ în structura regeneratelor care provin din ele. De fapt, celulele blastemale diferențiate manifestă o organospecificitate totală, pe cînd celulele blastemale nediferențiate manifestă doar o organospecificitate parțială. Astfel, dacă mezenchimul izolat al blastemului adult de membru poate da naștere la structurile obișnuite ale membrului, în schimb mezenchimul blastemal tînăr caudal nu este capabil de a produce structuri axiale caudale.

3. Cu toate că celulele blastemului tînăr au proprietăți histogenetice nedefinite și pot da naștere oricărui tip de țesut, ele își mențin specificitatea de organ în timpul regenerării (1353). Blastemele tinere au o specificitate de organ care se evidențiază în transplante, cu condiția ca părțile epiteliale ale regeneratului să rămînă intacte. Astfel, stabilitatea specificității de organ și-a găsit confirmarea în experimentele de implantare de suspensii celulare din țesuturi disociate în membrele prealabil iradiate cu raze X (625), (1163).

Cu toate acestea, unii autori (757), (805), (893), (894), (1387), (1388), (1389) consideră că, în cursul procesului de dediferențiere, celulele blastemale foarte tinere au capacitatea de a se dezvolta potrivit mediului în care se găsesc, ele evoluînd nu conform destinației lor inițiale, după tipul prescris de teritoriul lor de regenerare, ci după tipul teritoriului de regenerare în care se găsesc *(Ortsgemäss)*, ceea ce ar conduce la concluzia că blastemele foarte tinere sînt pluripotente. Această posibilitate există, dar ea nu este nelimitată și asemenea transformări sînt fenomene rare, considerate de Weiss ca *modulații instabile*. Cazurile de reversiuni raportate în literatură sînt foarte puține. Realitatea este că blastemele foarte tinere transplantate într-o regiune indiferentă sînt întotdeauna resorbite. Există totuși posibilitatea ca structurile locale să influențeze un blastem tînăr și să-l dirijeze în dezvoltarea sa. Astfel, în cazul transplantării blastemelor în cavitatea generală a corpului, influența acestui mediu este stabilă, blastemele retransplantate ulterior la nivelul locului lor de origine nemaidiferențiindu-se conform destinației lor primitive (1165). Realitatea este că celulele unui blastem foarte tînăr sînt foarte labile în ceea ce privește potențialitățile lor histogenetice, dar sînt stabile în ceea ce privește destinația lor de ansamblu.

În orice caz, celulele blastemului vîrstnic al membrului nu sînt capabile de a forma regenerate caudale și, invers, celulele blastemale bătrîne ale cozii nu sînt capabile de a forma regenerate de membru atunci cînd sînt transplantate din propriul lor teritoriu de regenerare într-un alt teritoriu de regenerare. Din aceste motive, majoritatea autorilor consideră că există o stabilitate a specificității de organ a celulelor blastemale, în sensul că, chiar după și în pofida diferențierii sale, regeneratul se dezvoltă, în transplante, conform originii sale *(Herkunftsgemäss)*, și nu conform mediului în care se dezvoltă celulele

Scanned with OKEN Scanner

blastemale *(Ortsgemäss)*. Această specificitate de organ a celulelor blastemale se manifestă în condiții experimentale, atunci cînd structurile regenerative depind de originea celulelor care stau la baza construirii regeneratului. WADDINGTON (1353) subliniază că, deși celulele blastemului timpuriu au proprietăți histogenetice nedefinite, putînd da naștere la mai multe tipuri de țesuturi, ele mențin în decursul regenerării specificitatea lor tisulară.

4. Din experiențele de transplant și mai ales din cele de marcare a reieșit că blastemul are *tendințe de autodiferențiere*, care au fost depistate în blastemul tînăr. S-a stabilit că structurile distale (degete, mînă) provin prin dezvoltarea autonomă, locală, a acestui blastem. Dezvoltarea lor este guvernată de un *centru de organizare apical*. Rezultă că materialul cel mai distal, care cade în afara influenței țesuturilor bontului regenerativ, se dezvoltă autonom, conform tendințelor sale de autodiferențiere directivate de centrul organizator apical (304), (310) (fig. 112). Această supoziție a fost certificată și prin studiile autoradiografice ale sintezei ADN.

S-a constatat însă că blastemul tînăr are și tendințe de dezvoltare proximală (107), (311), (1207). Anumite experiențe (311) au demonstrat capacitatea de autodiferențiere proximală a elementelor cartilaginoase și scheletice, în absența influenței organizatoare a epidermului sau a bontului regenerativ. Mezenchimul labei poate astfel induce, în transplante, și structuri proximale (108).

De fapt, semnificația prospectivă a celei mai mari părți din blastemul tînăr este proximală, iar cea mai mare parte a masei mezenchimatoase ce determină diferențierea mîinii apare ceva mai tîrziu prin proliferarea vîrfului apical. În cazul transplantării întregului regenerat sau numai a jumătății sale proximale sau distale, diferențierea include, invariabil, structuri distale (304), (306), (307), (308).

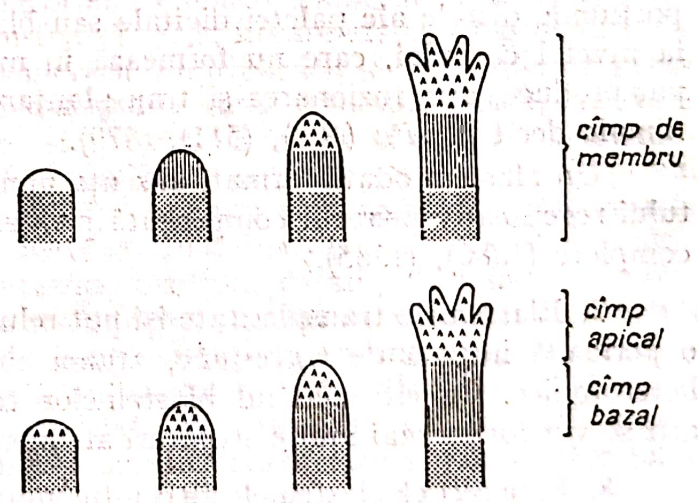


Fig. 112. — Diagramă ilustrînd două concepții diferite cu privire la organizarea regională în regenerarea membrului. Sînt arătate, de la stînga la dreapta, patru stadii succesive. În șirul superior, potrivit concepției vechi asupra organizării, blastemul este zugrăvit ca fiind morfologic neutru. Șirul inferior reflectă concepția modernă (după Faber).

|||| = tendințe de diferențiere proximală;
^ ^ ^ = tendințe de diferențiere distală.

Din toate datele experimentale reiese că numai tendințele de diferențiere distală au, *in situ*, un caracter autonom, în timp ce tendințele de diferențiere proximală se realizează doar sub influența țesuturilor bontului regenerativ.

5. Blastemul dispune și de anumite potențialități cantitative, exprimate prin rolul jucat de cantitatea masei de mezenchim. Fără îndoială că este necesară o cantitate anumită, suficientă, de mezenchim pentru ca blastemul tînăr distal să fie capabil de a forma toate elementele distale ale membrului

Scanned with OKEN Scanner

regenerativ. Dealtfel, indexul mitotic este semnificativ mai ridicat în partea distală a blastemului de membru de axolotl, ceea ce certifică cele spuse anterior (493).

În realitate, procentul masei mezenchimatoase este determinant în ceea ce privește apariția progresivă a structurilor proximale. Astfel, blasteme tinere formează predominant, așa cum am mai spus, structuri de labă, dar ele pot determina, dacă sînt mai voluminoase, și structuri proximale. La *Salamandra maculosa*, la axolotl sau la *Triton cristatus*, blastemele tinere transplantate în flanc pot, atunci cînd sînt mai voluminoase, să determine și structuri proximale (767). Apar deci noi tendințe de diferențiere proximală odată cu creșterea în masă a blastemului (108). Pe de altă parte, analiza statistică a arătat că, în experiențele de transplantare combinată, implantarea de mezenchim adițional promovează selectiv dezvoltarea structurilor proximale. Astfel, mezenchimul care derivă de la nivelul distal este capabil să formeze un membru întreg atunci cînd masa de mezenchim este abundentă. Blastemul carpului prezintă o dezvoltare considerabil mai redusă față de cel al brațului. Această creștere a capacității de diferențiere este datorată nivelului suprafeței de amputare, care stabilește nivelul masei de mezenchim implicate în regenerare (769). Se pare deci că masa totală de mezenchim este factorul principal în îndeplinirea cantitativă a formării primordiilor membrelor (108).

6. Diferite experiențe au stabilit că există anumite potențe reglatorii ale blastemului. Se pare că anumite părți ale acestuia nu sînt irevocabil determinante în formarea părților specifice ale viitorului membru. Astfel, fuzionarea heterotopică a două sau a mai multor blasteme combinate la întîmplare în ceea ce privește orientarea lor și transplantarea acestui agregat într-o regiune neutră pot conduce la formarea unui singur membru. Mai mult decît atît, porțiunile distale ale paletei digitale sau blastemele obținute prin amputații la nivelul carpului, care nu formează în mod obișnuit structuri proximale, pot produce, prin fuzionarea și transplantarea agregatelor, structuri mai proximale decît *in situ* (108), (511), (879).

Un blastem odată format, absența unui țesut provenit din celulele bontului regenerativ poate fi compensată prin reglare, rezultînd astfel regenerări complete (1380), (1385).

7. Blastemele transplantate își pot relua creșterea și diferențierea, după o perioadă inițială de regresiune, atunci cînd sînt transplantate în regiuni heterotopice. Cu cît volumul blastemelor transplantate este mai mare, cu atît se vor forma mai multe structuri ale membrului regenerat (108).

8. Este cert că blastemele au o influență inductivă în realizarea procesului de regenerare. Această activitate inductivă este probabil datorată unui factor trofic similar celui nervos (1439).

9. Se mai poate constata că și țesuturile blastemale nemezenchimatoase ale blastemului au o putere de autodiferențiere. Astfel, anumite experiențe (311) au stabilit capacitatea de autodiferențiere proximală a elementelor cartilaginoase și scheletale, în absența oricărei influențe organizatoare a epiteliului sau a bontului regenerativ.

Scanned with OKEN Scanner

Rolul și potențialitățile bontului de amputare

Numeroase experiențe certifică faptul că țesuturile bontului de amputare contribuie, în foarte largă măsură, la edificarea regeneratului.

Așa cum s-a mai spus, toate țesuturile bontului de amputare participă, în grade diferite, la formarea blastemului de regenerare. Se apreciază că blastemul normal al membrelor regenerative la amfibii este format prin acumularea celulelor provenite din bontul de amputare, celule care se dediferențiază (185), (1294).

Unii autori au considerat (565), (967) că fiecare țesut al bontului de amputare al cozii amfibiilor ar produce, prin simplă creștere continuă, țesuturile corespunzătoare ale regeneratului caudal. Această supoziție a fost însă complet infirmată de alți autori (808), (809), care au constatat că, în afara părților regenerative provenite direct din echivalentele lor prezente în bont, ar mai exista și părți ale regeneratului ce provin direct din blastem. Această ipoteză a fost, la rîndul ei, criticată în baza următoarelor considerente:

— În amputarea cozii, coarda dorsală, care mai persistă în bont, nu se prelungește niciodată în regenerat (512).

— Ganglionii spinali și nervii se pot reconstitui, *de novo*, din măduva spinării, chiar în absența bontului (1188).

Rezultă că, în realitate, blastemul de regenerare provine doar în urma migrării celulelor dediferențiate ale bontului de amputare.

Reacția imediată a țesuturilor bontului de amputare relevă faptul că el este sediul unei activități metabolice considerabile, activitate prezentă cu mult înainte de apariția proceselor histologice vizibile, care corespund probabil sintezelor de enzime necesare histolizei și dediferențierii, care apar mai tardiv (643). Cercetări biochimice efectuate în bontul de amputare au arătat că la acest nivel are loc o încorporare relativ slabă, dar practic neîntreruptă, de uridină, ceea ce demonstrează că, în fiecare etapă a regenerării, au loc noi sinteze de ARN necesare migrării, multiplicării și diferențierii regeneratului. Pe de altă parte, elaborarea de materiale de structură (ADN, proteine) explică intensa utilizare a uridinei și a timidinei în cursul creșterii blastemului. Încorporarea foarte precoce a timidinei ar avea semnificația faptului că mitozele care se produc imediat după amputare în țesuturile diferențiate ale bontului ar fi mult mai numeroase decît presupunea CHALKLEY (186).

S-a constatat că rolul țesuturilor bontului de amputare în regenerarea organelor externe la amfibii nu se limitează numai la furnizarea de celule făuritoare ale blastemului, ci ele contribuie și la organizarea, creșterea și diferențierea blastemului. Această influență a țesuturilor bontului nu se manifestă însă numai la nivelul suprafeței de amputare, dat fiind că bontul nu este precis delimitat de restul organului în regenerare și pentru că celulele regeneratului iau naștere chiar în bont (186).

S-a crezut multă vreme că factorii de organizare ai regeneratului sînt localizați exclusiv în bontul de amputare, avînd proprietăți de cîmp morfogenetic (397), (400), (780), (1385), (1388). În realitate, s-a constatat că factorii de organizare sînt localizați și în celelalte țesuturi ale regeneratului, inclusiv în blastem. Totuși, bontul de amputare are un rol important, care nu se limitează numai la stabilirea organospecificității membrului amputat, ci include și o acțiune asupra organizării blastemului (1353), (1385), (1386). Teritoriul blastemal reacționează incontestabil, așa cum vom arăta, conform propriilor

Scanned with OKEN Scanner

sale potențialități, dar și conform instrucțiunilor primite de la bază, bontul de amputare impunînd regeneratului diferențierea sa proximală și limitele morfogenezei. Inducerea calității membrului în blastem de către țesuturile bontului a fost descrisă la speciile de triton (2), (1092) și la axolotl (283), (1058), la care s-au transplantat blasteme tinere ale membrului posterior în membrul anterior amputat sau invers, obținîndu-se regenerări conforme sediului transplantării.

Țesuturile bontului au o influență remarcabilă și asupra determinării structurilor proximale ale regeneratului (244), (826), (1353), dovadă că, la larvele de *Ambystoma*, transplantul de membru izolat duce numai la formarea de structuri regenerative parțiale, pe cînd transplantele prevăzute cu un bont conduc la formarea de membre complete (237), (767), (879). Deoarece transplantul izolat de mezenchim formează mai puține structuri decît cele pierdute prin amputare, este evident că, în cursul regenerării normale, prezența țesuturilor bontului suplimentează crearea de structuri identice celor pierdute prin amputare.

Se consideră că bontul transmite probabil mesaje morfogenetice de natură chimică la blastem (310), (400), (805), mesaje care ar determina procesele formării, creșterii și diferențierii regeneratului. Unele cercetări confirmă acest punct de vedere. Astfel, transplantarea în regiunea înotătoarei dorsale a blastemului de 6—15 zile, obținut de la membrele larvelor de *Ambystoma*, blastem fie prevăzut cu bontul său, fie lipsit de acest bont, conduce la apariția musculaturii regeneratului în cazul prezenței bontului și la absența dezvoltării musculaturii regeneratului în absența bontului (879).

S-a mai constatat (373) că blastemele cozii sau membrelor la *Salamandra maculosa* au o perspectivă diferită, după cum sînt transplantate izolat sau în asociație cu țesuturile bontului. Un blastem timpuriu transplantat izolat pe spatele animalului nu dezvoltă structuri de membre, pe cînd, dacă țesuturile bontului sînt incluse în grefă, apare un regenerat care crește și se diferențiază ca membru. De Both (107) a stabilit de asemenea că mezenchimul care derivă din regiunile bontului de amputare este capabil de a forma un membru întreg atunci cînd masa de țesut este suficientă. Bontul ar mai controla și limita creșterii blastemale (60). În cazul regenerării anormale a membrelor la anurele adulte, acolo unde s-au stabilit anumite caracteristici morfologice ale țesuturilor bontului, aceste caracteristici constituie un factor de completă suprimare a regenerării membrelor. Inhibarea experimentală a acestor caracteristici conduce la regenerarea membrelor. De asemenea, modificările mecanice ale oaselor bontului la vertebratele superioare provoacă inhibarea regenerării, dat fiind că oasele bontului sînt active în procesul regenerativ numai în urma augmentării histolizei lor (1310), (1312).

Din aceste date ar rezulta că se poate stabili existența influențelor bontului de amputare asupra dezvoltării regeneratului, celulele blastemale cu posibilități de dezvoltare multiplă fiind capabile de a răspunde la influențele morfogenetice care vin de la bont (310), (368), (400), (402), (404), (649), (650).

Unele experiențe demonstrează că, în cazul anumitor țesuturi, influența bontului regenerativ este nulă. Astfel, în cazul implantării de cartilaj în țesuturile regenerative, cartilajul contribuie, prin condroblastele sale, la diferențierea blastemului, condroblastele formînd cartilaj, dar, prin inducție, permițînd și celulelor blastemale să-l formeze. În acest caz, formarea de cartilaj este independentă de influențele bontului.

Scanned with OKEN Scanner

Scheletul bontului nu este indispensabil formării oaselor regeneratului de membre (91), (436), (683). În condiții experimentale, dacă bontul de amputare al membrului este lipsit de elemente scheletice și de cartilaj, blastemul este totuși capabil de a diferenția aceste elemente, cu toate că celulele sale nu pot deriva din celulele cartilaginoase, pericondrale, osteocitare sau periostale ale bontului (683), (1382). Astfel, în absența bontului, blastemele de membre ale larvelor de *Ambystoma*, transplantate în regiunea înotătoarei dorsale, produc cartilaj și schelet (509), (511), (879).

Efectuînd culturi de blasteme de membre amputate de la larvele de *Ambystoma maculatum*, blasteme lipsite sau prevăzute cu bont de amputare, STOCUM (1206) a constatat diferențierea precartilajului și a mușchilor striați în blastemul în care bontul lipsește. Din aceste experiențe, autorul a desprins concluzia că blastemul din stadiul conic (nediferențiat) nu este dependent de mesajele inductive ale bontului, ci constituie un sistem de autodiferențiere.

Pe de altă parte, s-au efectuat transplante de țesuturi variate neiradiate pe bontul de amputare al unui membru iradiat. Cu toate că blastemul normal al membrelor se formează în urma acumulării celulelor dediferențiate provenite din bontul de amputare, s-a constatat că iradierea acestor celule nu mai permite formarea de blastem și că blastemul care ia naștere provine din țesuturile neiradiate care au fost grefate. Rezultă că diferite tipuri de celule (osoase, dermice, musculare etc.) se pot dediferenția spre a forma celule blastemale echipotente, care, în urma rediferențierii lor, pot da naștere la celule diferențiate și specializate ale regeneratului (404), (1250), (1280), (1283), (1304), (1305), (1306). În această privință există trei ipoteze, și anume: 1) grefa neiradiată formează un regenerat independent de bontul iradiat, exceptînd inervația și circulația sa; 2) grefa neiradiată produce un anumit stimul care excită bontul iradiat, ducînd la himere derivate din grefă și din bont; 3) grefa neiradiată degenerează, dar stimulează bontul iradiat, care produce exclusiv regeneratul.

S-a ajuns astfel la concluzia că țesuturile bontului de amputare exercită o influență asupra morfogenezei regeneratului, dar această influență este restrînsă, și nu indispensabilă. Nici unul dintre țesuturile bontului, cu excepția țesutului conjunctiv, nu este specific indispensabil regenerării membrului (310), (404), (435), (446), (967). Se pare că, în regenerarea normală, bontul de amputare poate directiva regenerarea anumitor structuri, dar nu prin darea de instrucțiuni morfogenetice directe, ci indirect, controlînd talia blastemului față de cea a bontului (DE BOTH). Influența țesuturilor bontului s-ar exercita îndeosebi asupra diferențierii structurilor proximale, diferențiere care apare mai tardiv și este secundară. Acțiunea bontului de amputare s-ar face prin intermediul blastemului, conform acțiunii unui cîmp de organizare gradientic în direcție proximo-distală (304).

Rezultatul final al procesului regenerativ nu ar fi deci dependent doar de influența țesuturilor bontului, ci și de interrelațiile dintre țesuturile bontului și cele ale regeneratului.

Scanned with OKEN Scanner

Cîmpurile morfogenetice sau teritoriile de regenerare

Conceptul *teritoriilor de regenerare* sau al *cîmpurilor morfogenetice* datează din anul 1926, cînd GUYÉNOT (432), (433), (434) a creat această noțiune, considerînd că organismul este un mozaic de teritorii net delimitate, cu potențialități morfogenetice specifice, ale căror limite sînt altele decît cele ale organelor situate la nivelul lor. Avînd o sensibilitate diferențiată față de hormoni, față de agenții patogeni, față de mediul general, aceste teritorii sînt și realizatorii proprietăților ereditare. Proprietatea fundamentală a unui teritoriu de regenerare este specificitatea potențialităților sale morfogenetice, adică faptul că orice organ care regenerează, în raport cu o parte a acestui teritoriu și plecînd de la țesuturile sale, va fi întotdeauna specific (de pildă, un membru posterior). Delimitarea acestor regiuni se face în decursul vieții embrionare prin jocul inducțiilor și al „competențelor", cînd diferențierea realizată primitiv, pe plan dinamic, se stabilizează pe plan structural (436), (437), (594).

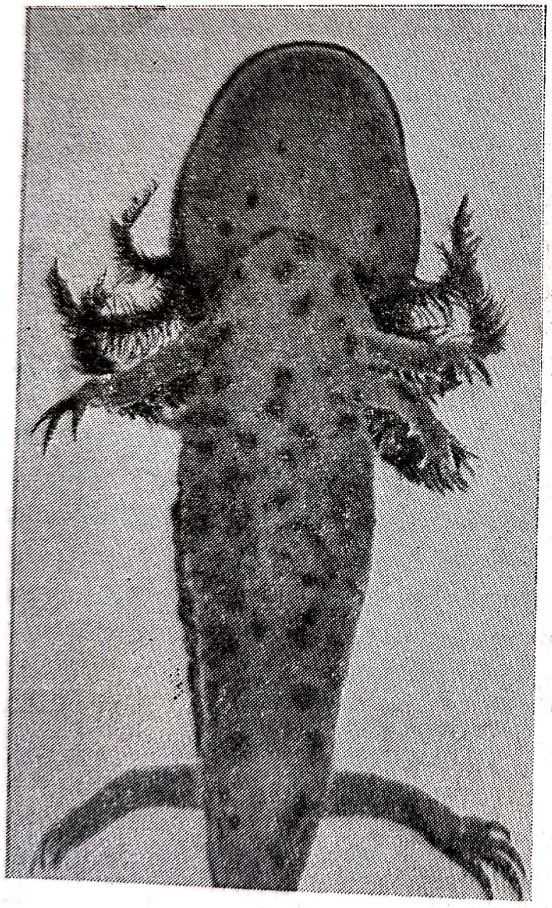


Fig. 113. — Devierea nervilor membrului anterior la amfibii în direcție caudală, către un punct inclus în teritoriul bazei membrului. Se observă formarea de membre supranumerare (după De Both).

Noțiunea de cîmp morfogenetic se bazează pe o serie de date, și anume:

a. **Răspunsul specific al fiecărui teritoriu la excitația nervoasă** (115), (435), (440), (442). În cazul în care nervii membrelor sînt deviați în regiuni proxime bazei membrului (teritoriul de regenerare „membru"), are loc formarea de membre supranumerare (fig. 113), devierea nervilor în afara acestor teritorii neconducînd la formarea de membre supranumerare (110), (434), (445),

(694), (695). Pe de altă parte, devierea nervilor membrului în regiuni îndepărtate, ca regiunea bazală a cozii (teritoriul „coadă"), nu conduce decît la formarea de apendice caudiforme supranumerare, și nu la formarea de membre (115), (436), (440), (443), (595). Rezultatul influenței nervoase nu depinde de natura nervului, ci de natura părților care suportă această influență (440).

Această proprietate de a declanșa impulsurile teritoriilor de regenerare prin metoda deviației nervoase este utilizată pentru a se preciza, pe cale experimentală, limitele teritoriilor de regenerare, constatîndu-se că la limita dintre două teritorii se constituie himere alcătuite din cele două organe dependente de cele două teritorii alăturate.

b. **Transplantarea teritoriilor de regenerare.** Diferențierea specifică a organelor care se dezvoltă pe aria unui teritoriu dat nu este determinată de situația acestui teritoriu față de ansamblul organismului. Transplantarea într-o altă regiune a corpului a unui anumit teritoriu de regenerare sau a unei porțiuni a acestui teritoriu se face fără pierderea competenței teritoriului în formarea organului respectiv. Regeneratul se va dezvolta pe acest transplant conform specificității primare a teritoriului său, și nu potrivit noii situații în care el se găsește *(Herkunftsgemäss)* (379), (432), (443), (1320). Astfel, transplantarea unei părți din teritoriul de regenerare al membrului de triton într-o regiune „neutră" a flancului sau a spatelui, însoțită de devierea nervilor membrului în transplant, conduce la formarea de membre supranumerare (KURZ, WEISS, DE GIORGI, MILOJEVIĆ, BISCHLER, VALLETTE, GUYÉNOT și PONSE, citați după (1); (594)). Teritoriile de regenerare caudale, transplantate în regiuni morfogenetice „neutre", cum este regiunea spatelui, conduc la formarea de apendice caudiforme (44), (115), (436), (443).

Formarea adițională de membre (heteromorfoze experimentale) poate fi evocată prin implantarea de țesuturi străine (rinichi, tumori) în aria teritoriului de regenerare. Atunci cînd aceste țesuturi sînt implantate în afara teritoriului de regenerare al membrului, nu produc heteromorfoze, ceea ce dovedește existența cîmpurilor morfogenetice (108), (283), (799).

c. **Extirparea teritoriilor de regenerare.** În general, extirparea completă a unui teritoriu de regenerare face imposibilă refacerea organului corespunzător (285), (438), (652), (1073). Astfel, extirparea teritoriului „coadă" la triton este urmată de absența regenerării cozii (1073). GUYÉNOT (1927, citat după (1)) a semnalat însă la membrul de triton că extirparea teritoriului „membru" nu conduce decît la o întîrziere a regenerării. Studiindu-se comparativ, la mormolocul de *Alytes obstetricans*, regenerarea primordiilor membrelor anterioare și posterioare în momentul în care acestea prezintă o capacitate regenerativă, s-a ajuns la concluzia că suprimarea parțială a primordiilor permite o regenerare identică, indiferent dacă este vorba de membrul anterior sau de cel posterior. Supresiunea totală a primordiilor arată însă că puterea regenerativă a primordiului posterior este păstrată și conduce la regenerare tipică, pe cînd cea a membrului anterior este mult mai redusă, conducînd în unele cazuri la regenerări atipice. Se poate conchide că teritoriul de regenerare al primordiului membrului posterior are limite mult mai întinse și structură diferită față de cel al membrului anterior (652).

S-a mai constatat că, atunci cînd este eliminată numai o parte a teritoriului de regenerare, procesul regenerativ restaurează tot ceea ce lipsește.

Scanned with OKEN Scanner

Toate aceste date experimentale stabilesc că organismul urodelelor constituie un mozaic de teritorii de regenerare independente, ca teritoriul cozii, al membrului anterior, al membrului posterior, al nasului, al maxilarelor. Teritoriile de regenerare sînt deseori separate prin teritorii neutre, lipsite de potențialități morfogenetice. Există, pe de altă parte, o ierarhie dominantă în cadrul sistemelor regenerative ale unui organism (GHIRARDELLI, LENDER, TARDENT, VANNINI). Potrivit acestei ierarhii, regiunile cu cel mai înalt centru de control inhibă regiunile învecinate în diferențierea organului pe care-l determină ele însele și le induc producerea organelelor caracteristice. Fiecare regiune ar avea un centru de această natură, cu acțiune identică asupra regiunilor alăturate, în ordinea lor topografică (ZILLER-LENGEL).

Teritoriile de regenerare apar ca *sisteme cu potențialități parțiale*, înțelegîndu-se prin aceasta că ele manifestă potențialități limitate. Proprietățile acestor sisteme sînt: specificitatea în activarea morfogenetică, conservarea specificității în transplantele heterotipice, pierderea specificității în extirparea completă.

În principiu, elementele unui teritoriu de regenerare sînt capabile de a determina regenerarea unui anumit organ. Dar teritoriul de regenerare este, în realitate, o unitate complexă. Există în cadrul teritoriului zone cu potențialități morfogene diferite, în sensul că potențialitățile determinatoare pot varia cantitativ sau chiar calitativ de la un punct la altul al teritoriului (594). Astfel, părțile periferice ale teritoriului „membru" determină o regenerare mai puțin frecventă și mai înceată decît părțile centrale, celulele morfogenetice active fiind mai reduse la periferie decît la centru (594). Pe de altă parte, teritoriul membrului anterior prezintă zone diferite cu caracteristici specifice privind polaritatea și simetria regeneratului. În teritoriul de regenerare al membrului anterior la tritonul adult au fost puse în evidență trei zone speciale: zona A (*ortotopică*, adică dependentă de situația regeneratului), cuprinzînd rădăcina membrului și vecinătatea sa imediată. Regeneratele sînt aici labe normale conforme lateralității (armonice); zona B (*heterotopic limitată*), situată lîngă creastă. Labele formate sînt simple și conforme lateralității corpului, dar în situație inversată; zona C (*heterotopică*), care corespunde porțiunii dintre labă și zona A. Toate labele complete sînt duplicate, componentul primar al acestei duplicări fiind o extremitate de asimetrie inversă lateralității (disarmonice); componentul secundar este oglindit față de cel primar (445), (594).

S-a dovedit că fiecare zonă a teritoriului membrului anterior posedă calități de asimetrie și de duplicare, calități care îi sînt proprii și pe care le conservă și după transplantare. Independența morfogenetică a fiecărei zone este totală dacă ea a fost grefată pe un teritoriu neutru. Dimpotrivă, transplantarea pe un teritoriu activ conduce la participarea țesuturilor profunde, care se substituie celor ale grefei și formează un regenerat conform propriilor lor potențialități morfogenetice.

Teritoriile de regenerare au fost puse în evidență și la larvele de *Triton cristatus* și chiar la embrionii în stadiul de mugure caudal timpuriu. Localizarea și caracterele lor de asimetrie și de duplicare corespund celor ale adultului. De aici concluzia că teritoriile de regenerare ale adultului sînt vestigiile teritoriilor de regenerare ale larvelor. Inducerea acestor teritorii poate să se schimbe odată cu vîrsta animalului, dar răspunsul rămîne întotdeauna specific și independent (594).

Scanned with OKEN Scanner

Teritoriul „coadă" are, la rîndul său, două zone cu origine și potențialități morfogenetice distincte: o zonă centrală mezodermală și o zonă periferică. Prima zonă, care apare la larve și persistă la adult, produce determinarea axului musculo-scheletic sub influența inductivă a coardei dorsale, în timp ce zona a doua, care formează înotătoarele, derivate din creasta neurală, regresează în metamorfoză și produce, chiar în absența măduvei spinării, o structură conjunctivă (597). Zona centrală mezodermală ar avea deci potențialități întinse, putînd da, sub influența adecvată a măduvei, scheletul, musculatura și înotătoarele, iar zona periferică n-ar produce decît regenerarea înotătoarelor (595).

Aceste date pornesc de la experiențele lui KIORTSIS și DROIN (595), după care în regenerarea cozii larvelor de salamandră există două componente: a) organele axiale, care nu regenerează atunci cînd măduva este absentă; b) conjunctivul și epidermul, care regenerează chiar în absența măduvei.

Se pare că acțiunea teritoriului de regenerare, acțiune analogă celei a centrului organizator embrionar, este datorată unei influențe speciale de ordin chimic (*influx de determinare* (1)) asupra blastemului. Cert este că influxul de determinare nu provine nici de la sistemul nervos și nici de la schelet, regenerarea putîndu-se realiza în absența oricărui element scheletic (1382), (1383), (1384). În urma existenței influxului de determinare, realizarea regeneratului se prezintă ca un *fenomen de inducție morfogenetică de ordin chimic*. Substanțele chimice și inductoare nu ar avea însă o specificitate de specie (HERLANT, LENDER). Specificitatea teritoriilor s-ar reduce deci la specificitatea influxurilor de determinare. În hipertrofia compensatorie de la mamifere ar exista un asemenea influx datorat unui promotor circulant (BALLANTINE).

Din toate aceste date rezultă că teritoriul de regenerare este un cîmp de individuație strict în ceea ce privește construirea unei unități complete și nearătînd nici un semn de activitate în afara limitelor unității sale. S-ar părea că forțele care conferă teritoriului de regenerare specificitatea sa morfogenetică emană de la un centru fix și că raza lor de acțiune diminuează în decursul dezvoltării. Regenerarea nu este numai rezultatul acțiunii cîmpului de regenerare al bontului, ci și un fenomen în care se naște un cîmp de individuație în blastem, cîmp care determină formarea întregului organ și diferențierea țesuturilor. Se pare, așa cum vom arăta, că există o legătură indubitabilă între teritoriile de regenerare și cîmpul de individuație ale blastemului.

Interrelațiile dintre țesuturile organului regenerativ

Cu toate că țesuturile locale — epidermul, țesuturile mezodermice, țesuturile bontului de amputare și nervii locali — joacă un rol deosebit în determinismul procesului regenerativ, trebuie subliniat că, alături de aceste tendințe de acțiune autonomă, se întîlnesc numeroase interrelații între țesuturile învecinate, interrelații cu rol decisiv în procesul regenerativ. De asemenea, în acest proces un rol important au și relațiile sistemice, realizate pe calea sistemului nervos central, a aparatului vascular și a sistemului endocrin.

Scanned with OKEN Scanner

Astfel, regenerarea apendicelor la amfibii depinde de intervenția epidermului scufiței apicale (1259), de natura celulelor blastemale din care se diferențiază regeneratul, de țesuturile bontului regenerativ, de influențele cîmpului morfogenetic respectiv, de influențele stimulatorii trofice ale fibrelor nervoase, între toate aceste elemente existînd numeroase interrelații (407). La acestea se adaugă și inducțiile venite de la sistemele generale (nervos, circulator, hormonal), precum și capacitatea țesuturilor plăgii de a răspunde la influențele locale și generale. Aceste corelații și interdependențe sînt dinamice și se realizează diferit. Stabilitatea determinării morfogenetice este, în urma acestor interrelații, mai relativă decît cea a determinării histogenetice, depinzînd în acest caz de natura corelațiilor.

Interrelațiile dintre epiteliu și blastem au fost studiate de numeroși autori (27), (28), (30), (72), (282), (283), (284), (285), (304), (307), (310), (311), (375), (396), (398), (399), (401), (407), (434), (463), (490), (493), (508), (509), (531), (564), (625), (640), (641), (703), (765), (766), (770), (772), (785), (803), (804), (916), (943), (944), (1010), (1014), (1016), (1026), (1042), (1065), (1075), (1078), (1106), (1126), (1129), (1132), (1134), (1139), (1151), (1154), (1167), (1187), (1203), (1207), (1230), (1256), (1257), (1258), (1259), (1260), (1261), (1262), (1263), (1264), (1265), (1267), (1268), (1281), (1282), (1283), (1287), (1294), (1305), (1351), (1382), (1383), (1384), (1435).

S-a constatat că interacțiunea dintre epiteliu și țesuturile subepiteliale (în ambele sensuri) este absolut necesară declanșării și evoluției procesului regenerativ (916), (1010). Această constatare este probată atît de faptul că blastemele denudate de epiteliu nu se pot diferenția, deși complexitatea lor histologică poate crește, cît și de faptul că blastemele denudate și reacoperite cu epiteliu heterotopic își recîștigă capacitatea lor regenerativă. Pe de altă parte, importanța interrelațiilor dintre epiteliu și blastem este demonstrată și prin rolul fagocitar al epiteliului, capabil de a fagocita în cursul regenerării coloranții vitali sau cărbunele injectat în blastem la începutul procesului de regenerare (531), (943), (1151).

În general, interacțiunile care se stabilesc între epiteliu și blastem se rezolvă prin rolul inductor al epiteliului asupra mezenchimului și, invers, al mezenchimului asupra epiteliului, pe baza unor mecanisme de autoreglare de tip *feed-back*. Există deci o influență morfogenetică mutuală între ambele componente ale regeneratului.

În regenerarea organelor externe, etapele pe care le parcurg interrelațiile dintre cele două elemente ale regeneratului depind de migrarea și de coalescența lor, de stabilirea corelațiilor lor funcționale reciproce, de vîrsta și, în fine, de integrarea lor în sistemele generale ale organismului (sistemele nervos, vascular și hormonal).

Paralel cu epitelializarea și cu formarea blastemului de regenerare, are loc coalescența între aceste țesuturi. Se pare că această coalescență nu constă numai într-o simplă acolare. Cercetările lui Ross și Odland asupra regenerării pielii la om au pus în evidență contacte intime între celulele bazale ale epiteliului și monocitele din blastem, contacte realizate prin prelungiri citoplasmatice emise de celulele bazale.

S-a arătat că epidermul trebuie să fie în contact intim cu țesuturile subiacente din două motive: în primul rînd, pentru a fi în poziția de a induce schimburi metabolice în mezenchimul subiacent, schimburi care conduc la formarea blastemului; în al doilea rînd, pentru a fi susceptibil la invazia

Scanned with OKEN Scanner

fibrelor nervoase care proliferează sub el. O barieră între epiderm și mezoderm împiedică regenerarea. Este cazul cicatricei fibroase care apare la vertebratele superioare, cicatrice avînd rolul de a exclude invadarea plăgii prin organisme patogene, care proliferează rapid în condițiile animalelor cu sînge cald (1075).

Atunci cînd mezenchimul ajunge în contact cu epiteliul, are loc declanșarea procesului regenerativ (916), (1010), (1207). S-a constatat însă că epiteliul nu participă imediat în formarea blastemului (490), (944). Totuși, nu prea tîrziu după realizarea injuriei, epidermul își impune acțiunea sa în determinarea blastemului. Astfel, interacțiunile apar chiar din momentul histolizei țesuturilor subepiteliale și al realizării contactului intim dintre epiteliu și aceste țesuturi histolizate (772). Contactul intim dintre epiteliu și mezenchim este o condiție premonitorie pentru dezvoltarea mezenchimului (564), (770), (1151), (1167). S-a semnalat că procesele de regenerare au loc numai în prezența scufiței apicale lipsite de membrană bazală și de continuitate a membranei adepidermale (916). Studiul ultrastructurii joncțiunii epidermo-mezenchimale la membrele de urodele pe cale de regenerare a fost efectuat de SALPETER și SINGER (1042), care au arătat că, în pielea intactă, epiteliul este mărginit în interior de o *membrană adepidermală* submicroscopică, dedesubtul căreia se găsește membrana bazală. Epidermul migrator al unei plăgi nu are această membrană, fiind deci în contact intim cu celulele mezenchimatoase subiacente. În cursul creșterii blastemului, membranele regresează în sens proximo-distal în ordinea dată, dar cea mai apicală regiune a epidermului rămîne un timp foarte îndelungat lipsită de membrane.

Așa cum s-a mai arătat, mezenchimul blastemal joacă un rol fundamental în organizarea regeneratului, reactivitatea sa fiind de o deosebită importanță în regenerare (434), (625), (641). Este stabilit că blastemul tînăr are tendințe de autodiferențiere distală și că structurile distale (degetele, mîna) provin din dezvoltarea autonomă, locală, a acestui blastem (304), (310), fiind guvernate de centrul organizator distal (apical). Totuși, aceste tendințe de diferențiere autonomă sînt supuse, *in vivo*, interrelațiilor blastemului cu țesuturile învecinate. Blastemul dispune de potențialități de autodiferențiere distală, care se relevă însă numai sub influența acțiunii epiteliului regenerativ. Un regenerat transplantat fără epiteliu este lipsit de puterea de exprimare a potențialităților sale de autodiferențiere (625).

Atunci cînd mezenchimul blastemal este în contact direct cu epidermul, au loc creșterea mezenchimului și formarea de structuri distale. În absența acestui contact, mezenchimul nu crește și nu apar structuri distale (1207). Contactul permanent dintre epiteliul regenerativ și blastem este absolut necesar în vederea formării structurilor distale, dar nu și în ceea ce privește formarea structurilor proximale. Epiteliul regenerativ are astfel un rol fundamental în diferențierea distală a unui membru amputat, făcînd parte din centrul organizator distal (310). Evocînd în mezenchim tendințe de diferențiere distală începînd cu debutul regenerării, distalizarea poate fi interpretată în funcție de dediferențierea indusă de epiteliu. Rezultă că epiteliul joacă un rol cauzal important în inițierea și în formarea tînărului blastem, ultimul posedînd o organospecificitate cu condiția ca părțile epiteliale ale regeneratului să fie intacte.

Scanned with OKEN Scanner

În vederea analizei interacțiunii dintre țesuturile blastemale și cele epidermale s-au efectuat experiențe constînd în transplantarea încrucișată a epiteliului membrelor între larvele de *Ambystoma* (1187) aneurogene și cele normal inervate. Aceste experiențe au arătat că țesuturile mezodermale ale membrelor inervate pot lua parte la regenerare atunci cînd sînt plasate în membre aneurogene, de unde s-a stabilit importanța epiteliului în inițierea regenerării membrelor.

Dar influențele dintre epiteliu și blastem nu au un singur sens. S-a semnalat și existența unor influențe ale blastemului asupra epiteliului (1267). În vindecarea plăgilor produse prin iradierea epidermului la șoarecii albi (463), anumite cercetări efectuate asupra țesuturilor regenerative în primele 4 zile au condus la concluzia că, în faza de migrare celulară (epitelializare și aflux de celule conjunctive subepiteliale), corionul și epidermul lucrează autonom. În faza de restituție celulară, epidermul stă sub dependența corionului, fiind determinat de un țesut conjunctiv activ cu celule purtătoare de mult glicogen.

Mezenchimul blastemal are, la rîndul său, o acțiune de restrîngere a procesului de hipertrofie a epiteliului (1093).

Se pune întrebarea: care din cele două componente ale regeneratului, epiteliul și blastemul, are rolul predominant în procesul regenerativ? Din experiențele efectuate pînă în prezent, se pare că blastemul deține rolul esențial în inducție. Cercetările lui HAY și FISHMAN (490) au stabilit că epidermul nu are un rol de inducție în primele stadii ale regenerării. Experiențele lui MÉSZÁROS și VÁNESA (765), (766) par a dovedi rolul primordial și major al inducției mezenchimale în formarea regeneratului. S-a constatat dealtfel că transplantele de piele totală, conținînd și elemente mezenchimale, de pe coada unui axolotl pe bontul regenerativ al membrului său conduc la formarea unei extremități caudiforme cu cartilaj de tip vertebral. În schimb, un transplant de piele lipsit de elemente mezenchimale duce la formarea unui regenerat fără modificări caudiforme. Aceste experiențe de transplant întăresc convingerea că elementul mezenchimal are un rol major în edificarea regeneratului. În fine, experiențele de parabioză *in vitro* au mai demonstrat că mezenchimul blastemal stimulează proliferările epiteliale chiar atunci cînd este vorba de un mezenchim omolog de la o altă specie.

Epitelializarea plăgii poate avea loc fără o regenerare consecutivă atunci cînd se folosește hormonul gonadotrop corial, care acționează inhibitor asupra elementelor mezenchimatoase (765), (766), ceea ce dovedește că rolul inductor al blastemului nu este absolut.

Care este însă interrelația dintre elementele epiteliale și cele mezenchimale (relația parenchim—stromă) în cursul regenerării organelor interne? În această direcție ne vom ocupa numai de cazul regenerării hepatice, ficatul în regenerare fiind un organ mai amplu studiat de noi (937), (940), (941), (951), (953), (954), (955), (956).

Se știe că proprietatea de bază a regenerării hepatice constă în hiperplazia și în hipertrofia tuturor elementelor restante în urma rezecției unei părți a ficatului. Pentru a depista rolul raportului parenchim—stromă în acest proces este necesar mai întîi să cunoaștem aceste interrelații în ficatul normal.

În ficatul normal, raportul parenchim — stromă determină un anumit asincronism funcțional al lobulului hepatic. Se constată că glicogenul este mai

Scanned with OKEN Scanner

abundent reprezentat în zona perilobulară a lobulilor hepatici, concentrația sa scăzînd spre zona centrolobulară. Repartiția succindehidrogenazei determină un contrast evident între zonele parenchimale periportale, bogate în enzimă, și zonele perivenoase, lipsite sau slab înzestrate cu această enzimă. Zona perilobulară este de asemenea mai bogată în condriom decît zona perivenoasă. Pexia tușului de China este mai intensă la periferia lobulilor hepatici și mai redusă spre centrul lor. Numărul celulelor Kupffer pexante scade de la periferie spre centrul lobulilor.

Ar părea deci întemeiată ideea că, datorită condițiilor locale de vascularizare ale zonelor parenchimale periportale, acestea depun cu predilecție rezerve energetice. Dealtfel, tot în această regiune se întîlnește un înalt nivel de respirație oxidativă, intensitatea respirației scăzînd spre zona perivenoasă a lobulilor hepatici.

Se poate spune, în concluzie, că zona centrolobulară este mai slab dotată cu fermenți, cu organite și cu rezerve energetice, constituind, după cum afirmă NOEL, o zonă de repaus.

Dar cercetările noastre cu privire la stimularea activității funcționale a ficatului prin vitaminizare îndelungată demonstrează că zona centrolobulară poate fi potențată în funcționalitatea ei. În urma vitaminizării se constată, la nivelul zonei de repaus, creșterea cantității de glicogen, a succindehidrogenazei, a pexiei tușului de China, astfel încît tabloul histochimic, care reflectă potențialitățile funcționale ale ficatului în hiperactivitate, se uniformizează.

Este cert că nu numai anumite celule epiteliale, dar și cele mezenchimale prezintă o diferență notabilă între periferia și centrul lobulului hepatic. Elementele stromale mai numeroase de la periferia lobulului hepatic determină anumite circumstanțe, și anume o abundență de substanțe nutritive și de oxigen. Pe de altă parte, aceasta este zona la nivelul căreia elementele străine (microbi, impurități etc.) intră în sistemul fiziologic al ficatului. Aceste circumstanțe, date de o anumită dispoziție a elementelor stromale de la periferia lobulului hepatic, au generat un metabolism local mai eficace, periferia lobulului fiind mai bogată în substanțe de rezervă și în echipament enzimatic decît centrul său. Zona periferică dispune totodată de un sistem de apărare mai dezvoltat și mai eficient.

Din aceste date reiese că un anumit raport stromă — parenchim induce, în condiții normale, un anumit gradient funcțional. Consecința este că anumite populații de celule parenchimale au un raport mai intim cu elementele stromei (periferia lobulului), în timp ce alte populații de celule parenchimale au un raport mai lax cu aceleași elemente (centrul lobulului). Cele din urmă hepatocite funcționează tot timpul sub nivelul capacității lor. La nivelul lor este înmagazinată rezerva funcțională a ficatului, ceea ce dă acestui organ un caracter redundant.

Este demn de remarcat că atît hepatocitele, cît și celulele Kupffer, elemente de origine diferită, funcționează similar în urma adaptărilor convergente la aceleași condiții locale și în urma raporturilor stabilite cu celelalte elemente stromale, realizînd zonația periferie — centru. Această zonație a lobulului hepatic, în cadrul polimeriei sale microanatomice, este o achiziție recentă în filogenie, știut fiind că ea lipsește la nevertebrate. Ar fi deci interesant de a se cunoaște distribuția elementelor stromale la nevertebrate.

Scanned with OKEN Scanner

Rămîne însă indiscutabil faptul că atît elementele epiteliale, cît și cele mezenchimale din centrul lobulului hepatic sînt capabile de o activitate crescută. Sub acțiunea unor stimuli ai funcționalității ficatului (vitamina B_{12}), diferența dintre centrul și periferia lobulului hepatic se șterge. Înseamnă că zona centrolobulară a parenchimului hepatic se bucură de o anumită plasticitate, fiind reactivă la acțiunea diferiților stimuli.

Important de reținut este însă faptul că, discutînd gradul de plasticitate al elementelor parenchimale și al celor mezenchimatoase prin prisma promptitudinii lor la acțiunea diferiților stimuli, experiența noastră ne permite să afirmăm că există o plasticitate crescută a elementelor epiteliale față de cele mezenchimale. Uniformizarea tabloului histochimic al parenchimului lobulului hepatic este mai rapidă decît uniformizarea potențialităților funcționale (pexia tușului de China) ale elementelor kupfferiene.

Trebuie subliniat că, în afara raportului parenchim — stromă, mai există și un alt factor în conturarea zonalității parenchimului hepatic. Este vorba de mecanismele generale de reglare ale funcționalității parenchimului hepatic, mecanisme care țin „în rezervă" o parte din potențialul funcțional al elementelor sale nobile. Aceste mecanisme nu au însă importanța relațiilor parenchim — stromă, care sînt decisive în determinarea zonalității hepatice.

Se pune întrebarea: cum intervin aceste relații în regenerarea ficatului? După CLARA, celulele de la periferia lobulilor hepatici, care formează „lamelele delimitante" dintre parenchimul hepatic și mezenchimul periportal, ar constitui sursa principală de energie a proceselor regenerative. Dealtfel, valul de mitoze, care asigură în ficatul regenerativ sporirea populației hepatice, este orientat de la periferie spre centru. Pare deci că, în cursul regenerării hepatice, *parenchimul este elementul cel mai înalt corelat cu stroma*, fiind predominant, decisiv, în restituția masei hepatice. Dar în acest proces mai intervin și alte mecanisme care acționează la nivelul centrului lobular. În toate loturile de regenerare hepatică experimentală se constată că zona centrolobulară — zona de repaus — își potențează notabil funcționalitatea (augmentarea glicogenului, a succindehidrogenazei, a condriomului). Acest nou mecanism, independent de relația parenchim — stromă, potențează activitatea populației celulare centrale, care în mod normal funcționează sub potențialitățile sale intrinsece. Rezultă că, în condițiile regenerării, mecanismele de reglare prin retroaferentație, dependente de necesitățile întregului organism, dictează demascarea potențialului funcțional al tuturor elementelor din zona centrolobulară, potențial care la acest nivel nu este legat de relația parenchim — stromă.

Cercetările noastre au abordat și studiul relațiilor parenchim — stromă în regenerarea hepatică la o perioadă foarte tardivă a restituției acestui organism (la 1 an după hepatectomia subtotală) sau în hepatectomiile subtotale repetate la același individ. În urma acestor cercetări, am ajuns la concluzia că, indiferent de condițiile experimentale, ficatul reacționează la injurii nu prin proliferări neorganizate, ci prin însăși reînnoirea structurii sale specifice, deci printr-o proliferare organotipică. În aceste cazuri, capacitatea regenerativă a elementelor conjunctive nu este inferioară capacității regenerative a hepatocitelor, deși în primele ore după intervenție refacerea țesutului conjunctiv întîrzie. În stadiile mai tardive

Scanned with OKEN Scanner

ale regenerării, refacerea elementelor conjunctive devine însă condiția *sine qua non* a normalizării arhitecturale a lobilor hepatici.

În condițiile hepatectomiilor repetate, țesutul conjunctiv pare normal în raport cu elementele epiteliale, care prezintă semnificative modificări ale histochimiei lor. Dacă injuriile repetate nu afectează calitatea fibrelor reticulare regenerate, evoluția ontogenetică a unui ficat regenerat afectează însă, în primul rînd, aceste elemente. Aberațiile de ordin histochimic înregistrate în parenchimul animalelor operate cu un an în urmă își au cauza în hipertrofia fibrelor reticulare.

Din toate aceste date rezultă, în mod evident, că interrelațiile epiteliomezenchimale sînt fundamentul desfășurării procesului regenerativ în orice formă a acestuia și că modificarea acestor interrelații este responsabilă de frînarea, inhibarea sau accelerarea procesului amintit.

Unele experiențe au stabilit și necesitatea existenței **interrelațiilor dintre epiteliu și bontul de amputare.** Astfel, în transplantele efectuate în cavitatea celomică a bonturilor membrelor de urodele lipsite de epiteliu nu se constată un proces de regenerare, bonturile nefiind învelite de epiteliul indispensabil formării blastemului. Regenerarea nu are loc decît în urma inserției intracelomice de bonturi prevăzute cu o scufiță apicală (398), (399).

De o deosebită însemnătate sînt și **interrelațiile dintre blastem și bontul de amputare,** așa cum am mai arătat. Cu toate că factorii de organizare ai blastemului sînt localizați și în alte țesuturi decît bontul de amputare, se consideră totuși că acesta din urmă are un rol important, care nu se limitează numai la stabilirea organospecificității membrului amputat, ci include și o acțiune asupra organizării blastemului (1353), (1385), (1386). Este știut că, în regenerarea organelor externe la amfibii, țesuturile bontului de amputare joacă un rol însemnat în formarea celulelor blastemale, contribuind la edificarea blastemului prin dediferențierea și migrarea propriilor lor celule. De fapt, după o acumulare inițială de celule dediferențiate venite de la bontul de amputare, blastemul nu mai primește nici o contribuție din partea acestuia, ceea ce concordă cu anumite cercetări ce arată că în edificarea blastemului, după dediferențierea și migrarea celulelor bontului, nu mai este inclusă nici o migrare de celule adiționale de la acest nivel (163), (164). Anumite experiențe par să probeze că celulele blastemale pot lua naștere și din alte țesuturi decît cele ale bontului de amputare, fapt la care ne-am referit cînd am descris transplantările de țesuturi variate neiradiate pe bontul de amputare al unui membru iradiat.

Cercetările experimentale (transplantare, marcare cu carbon etc.) efectuate la larvele de urodele au stabilit că tendințele de diferențiere autonomă distală, care apar în celulele dediferențiate ale blastemului tînăr, sînt convertite treptat, în cursul creșterii blastemului, deci înainte de realizarea stadiului conic al regeneratului, în tendințe de diferențiere a unor structuri proximale sub influența cîmpului morfogenetic situat la nivelul țesuturilor bontului, influență care induce un cîmp morfogenetic la nivelul părții bazale a blastemului. Astfel, unele cercetări au arătat că țesuturile diferențiate ale bontului induc, similar cu fenomenele de inducție embrionară, diferențieri în blastemul nediferențiat. Această supoziție este bazată pe faptul că blastemele nediferențiate încă și transplantate în regiuni îndepărtate de locul regenerării (morfogenetic neutre) nu se diferențiază, în timp ce

blastemele care și-au început diferențierea înainte de transplantare, deci care s-au format în contact cu bontul de amputare, continuă această diferențiere și după transplantarea într-o regiune neutră (404), (1389).

În urma influenței țesuturilor bontului, părțile cele mai proximale ale mezenchimului blastemal își pierd tendințele de autodiferențiere distală, care sînt înlocuite treptat, în direcția unui gradient proximo-distal, prin tendințe secundare de diferențiere proximală. Acțiunea bontului se exercită deci, în blastem, de la baza spre vîrful membrului, constituind un cîmp de organizare ce se realizează gradat în direcție distală. Dar cea mai distală parte a blastemului rămîne neinfluențată de inducțiile venite de la bont și se dezvoltă autonom distal sub influența organizatorului apical, care se află în interrelație cu epiteliul și este influențat de acesta din urmă. Rezultă că, în organizarea blastemului, există o combinație între procesele autonome și cele dependente de influențele bontului, și anume:

a. Cea mai distală porțiune a blastemului, care cade în afara influențelor țesuturilor bontului și intră sub influența țesutului epitelial, se va dezvolta autonom, conform tendințelor sale primare de diferențiere distală și sub acțiunea organizatorului distal. Această dezvoltare este mai tardivă decît cea proximală și va da naștere doar *degetelor*.

b. În cea mai mare parte a blastemului, tendințele de diferențiere autonomă distală sînt transformate, sub influența țesuturilor bontului, în tendințe de diferențiere proximală, permițînd dezvoltarea structurilor *antebrațului și brațului*.

c. La locul de tranziție privind valorificarea acestor potențialități se constată că determinarea este supusă atît tendințelor autonome distale, cît și celor de diferențiere proximală, permițînd dezvoltarea *carpului*.

Rezultă că, *in situ*, diferențierea diferitelor segmente ale membrului este rezultatul combinației dintre procesele autonome de diferențiere distală și procesele de diferențiere proximală dependente de influențele inductive ale bontului (108), (304), (305), (306), (307), (308), (309), (310), (1153), (1207). Inducția venită de la bont apare deci ca suplimentară autodiferențierii distale. Trebuie însă remarcat că influența inductivă a bontului este legată de calitatea țesuturilor situate la nivelul planului de amputare (400), (768), (770).

Partea apicală a regeneratului caudal la axolotl are, de asemenea, un anumit grad de independență morfogenetică, independență ce se manifestă în reglarea regenerării membranelor caudale. Lungimea părții independente este legată de gradul de anormalitate a bontului sau a părții bazale a regeneratului din dreptul membranei caudale respective. Astfel, în cazurile de anomalii extreme ale bazei regeneratului, reglarea apicală poate fi suprimată complet. Deci, extensia distală-proximală a reglării este corelată cu gradul de anormalitate a bazei regeneratului. Rezultatele obținute sugerează că părțile distale ale regeneratului caudal sînt morfogenetic independente de bont (309).

Se mai presupune că bontul exercită un control cu privire la limitele de creștere a blastemului, în urma unor diferențe de potențial bioelectric existente între bază și vîrf (60). Deoarece mezenchimul transplantat poate da naștere unei mase mai mari de țesut decît cea pierdută prin amputare, este evident că, în cursul regenerării normale, trebuie să existe un mecanism care reglează creșterea masei blastemale. S-a constatat că această

Scanned with OKEN Scanner

reglare este datorată atît pragului amputării, cît și influențelor inhibitorii ale bontului, influențe care previn formarea de structuri supranumerare. Blastemul interacționează deci cu țesuturile bontului pentru a limita extinderea atît a propriei sale creșteri, cît și a propriei regresiuni. Astfel, denervarea membrelor anterioare la larvele de urodele produce atît o inhibiție a creșterii regeneratului, cît și o regresiune excesivă a bontului amputat, fără a duce însă la modificări în formarea și diferențierea morfologică a blastemului (164), (166), (578), (1048), (1077), (1078), (1082), (1132), (1438), (1439), (1440), ceea ce demonstrează interrelația dintre acțiunile inductive ale bontului și creșterea regeneratului.

Se știe, pe de altă parte, că pierderea capacității de regenerare la anure este datorată schimbării proprietății de reactivitate la stimulii regenerativi, schimbare ce apare după metamorfoză (1130). S-a constatat însă că această pierdere este determinată și de slăbirea acțiunii inductive a cîmpului morfogenetic al membrelor. Cu alte cuvinte, cîștigarea capacității de inhibiție a regenerării se datorește acțiunii țesuturilor înalt diferențiate ale bontului (1352).

Mai recent, s-a ajuns la concluzia că țesuturile bontului exercită o influență asupra morfogenezei blastemului, *dar această influență este oarecum restrînsă și nicidecum indispensabilă*, în sensul că nici unul din țesuturile bontului, cu excepția conjunctivului, nu este specific indispensabil regenerării unui membru (91), (310), (404), (435), (436), (446), (683), (967), (1382). În condiții experimentale, s-a demonstrat că, dacă bontul membrului amputat este lipsit de elemente scheletice sau de cartilaj, blastemul diferențiază totuși aceste țesuturi prezente în regenerarea normală, cu toate că celulele sale nu pot deriva din celulele cartilaginoase, pericondrale, osteocitare sau periostale ale bontului. În cazul implantării de cartilaj în țesuturile regenerative, cartilajul contribuie prin condroblastele sale la diferențierea blastemului, condroblastele formînd cartilaj, dar făcînd, prin inducție, ca celulele blastemale să se diferențieze în celule cartilaginoase. De aceea, formarea de cartilaj în acest caz este independentă de influențele bontului. La același rezultat s-a ajuns și în transplantele de segmente de membre lipsite de os, transplante care regenerează cartilaj (91), (683).

Dealtfel, în absența bontului, blastemele de membre ale larvelor de *Ambystoma*, transplantate în regiunea înotătoarei dorsale, produc cartilaj și schelet (509), (511), (879). Efectuînd culturi de blasteme de membre amputate ale larvelor de *Ambystoma maculatum*, blastemele fiind lipsite de bont de amputare, Stocum (1206) a constatat în aceste blasteme diferențierea precartilajului și a mușchilor striați (fig. 114 și 115).

Aceste constatări certifică faptul că țesuturile bontului exercită o influență asupra organizării și morfogenezei blastemului, dar această influență este oarecum restrînsă și nicidecum indispensabilă, apărînd ca supraimpusă proprietăților autoorganizatoare ale blastemului și realizînd *o dublă asigurare a determinării regeneratului* (310), (404).

S-a mai constatat și o influență a blastemului asupra bontului de amputare. Anumite experiențe au stabilit că bontul de membre inserat în țesuturile mezodermale este inhibat în regenerarea sa (axolotl (785); triton adult (251); larve de *Ambystoma* (76), (398), (399)).

Scanned with OKEN Scanner

Diferite cercetări experimentale au demonstrat și existența unor **interrelații între țesuturile conjunctive propriu-zise și celelalte țesuturi blastemale** (de origine mezenchimatoasă).

Fig. 114. — Aspectul musculaturii în culturi de 25 de zile (după Stocum).

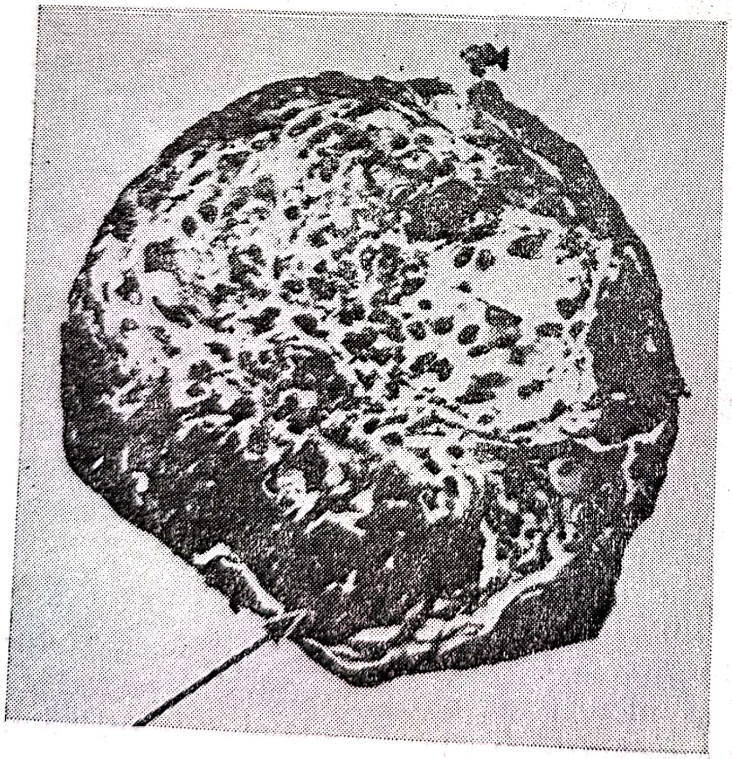


Fig. 115. — Aspectul blastemului cultivat timp de 25 de zile. Se constată dispariția blastemului și transformarea mugurelui regenerativ într-o masă amorfă (după Stocum).

Lucrările lui GUYÉNOT au arătat rolul inductiv al musculaturii blastemice în determinarea regenerării la amfibii (435). Astfel, grefa de țesut muscular la axolotl cu coada amputată are efecte stimulatorii asupra regenerării. Transplantarea de mușchi ai membrelor împreună cu țesut conjunctiv conduce la regenerarea de membre (889).

Scanned with OKEN Scanner

Este posibil ca musculatura să posede factori de organizare care se pot manifesta în absența măduvei spinării. S-a constatat astfel că transplantarea de mușchi proveniți din membre neiradiate de urodele în membre de urodele iradiate a produs frecvent regenerări anormale. Mușchii caudali provenind din coada neiradiată, transplantați în membre iradiate, au dat naștere la regenerate asemănătoare cozii *(tail-like)*, deci regenerate lipsite de țesuturi axiale (1250), (1280), (1304), (1306). Transplantarea musculaturii cozii pe bontul regenerativ al membrului sau invers a permis conversiuni ale cozii în membru sau invers (668), (682), (683), (684), (781), (1345), (1346). Fragmente de mușchi de membru sau de mușchi caudali implantate sub pielea spatelui animalului dau naștere la regenerate de membru sau regenerate caudale *(tail-like)* (883), (884).

Unele experiențe au demonstrat că regenerarea mușchilor din regeneratul caudal depinde nu numai de activitatea morfogenetică a măduvei spinării, ci și de influența exercitată de mușchii bontului (1008).

S-a constatat însă că, în urma lezării mușchilor de la nivelul unui anumit loc de transplantare a unei grefe de blastem de membru, blastemul transplantat poate forma ocazional elemente ale brațului, alături de elemente digitale și carpale, chiar dacă este transplantat în situație inversă (108).

GUYÉNOT (435) a atras atenția asupra rolului scheletului în determinarea structurii regeneratului la amfibii. Anumite experiențe (311) au stabilit că transplantarea de oase din membre neiradiate la membre de urodele iradiate produce frecvent regenerate anormale (1250), (1280), (1304), (1306). Alte experiențe au demonstrat și capacitatea de autodiferențiere proximală a elementelor cartilaginoase și scheletice în absența influențelor organizatoare ale epiteliului sau ale bontului (311). Se pare că și scheletul, ca și musculatura, posedă factori de organizare proprii, care se pot manifesta îndeosebi în absența măduvei spinării.

Pe de altă parte, s-a constatat influența țesuturilor caudale asupra scheletului. Astfel, după implantarea de coardă dorsală sau de țesuturi caudale în membrele iradiate, se observă o iregularitate în formarea scheletului membrelor (351), (834), (1281).

Un rol cu totul deosebit în regenerarea cozii larvelor de amfibii urodele îl joacă coarda dorsală. MARUCCI (1926, citat după (1)), efectuînd pe un mormoloc de anure grefe de coardă dorsală diferențiată prelevată de la un alt mormoloc, a semnalat influența organizatoare pe care o exercită grefa asupra pielii, țesutului conjunctiv și muscular al gazdei; el a obținut mici cozi suplimentare lipsite de sistem nervos. Autorul a considerat că coarda determină activarea proliferării țesuturilor și declanșarea potențialităților morfogenetice specifice ale teritoriului „coadă". Punctul de vedere după care coarda dorsală ar fi un factor important în regenerarea cozii este susținut și de experiențele lui GLADE (375), care a făcut o transplantare simultană de piele caudală și de fragmente de coardă dorsală în membru. GLADE a constatat că elementele scheletale ale membrului regenerat manifestă o mare asemănare cu scheletul cozii.

Cele mai valoroase rezultate privind influența corzii dorsale asupra regenerării cozii au fost obținute mai recent de către H. HOLTZER (1951, 1952, citat după (509), (512), (625)), S. HOLTZER (1954, citat după (513), (625)), precum și de KIORTSIS și DROIN (595), (597). Autorii au arătat că mezodermul înotătoarei caudale transplantat izolat pe un membru amputat nu dă naș-

Scanned with OKEN Scanner

tere la structuri axiale caudale în coada formată pe acest membru, dar transplantat împreună cu epidermul caudal permite formarea acestor structuri (509). De asemenea, s-a observat o similitudine exterioară evidentă a cozii regenerate pe membrul amputat la care s-a transplantat coadă regenerativă numai după transplantare de piele caudală (1280), (1281), (1282), (1283), stabilindu-se că structurile asemănătoare cu coada *(tail-like)* nu conțin organe axiale, cartilaje vertebrale și musculatură în absența totală a corzii dorsale. Unii autori (511), (874) au semnalat că, sub influența corzii dorsale, există posibilitatea atît a transformării în cartilaj a celulelor mononucleare provenite din fibrele musculare, cît și a formării țesutului muscular din celulele blastemale, fapt stabilit în transplantele de blastem pe înotătoarea caudală. După HOLTZER și colab. (509), (512), părțile scheletice ale cozii se dezvoltă sub influența inductivă a porțiunii ventrale a corzii dorsale, iar aranjamentul metameric al cartilajului și al mușchilor nu poate avea loc în absența acestei influențe, infirmînd astfel deducțiile lui TRAMPUSCH și GLADE, care susțineau că acest aranjament poate apărea în absența corzii dorsale.

Fig. 116. — Înlocuirea epidermului membrului slab inervat și amputat al larvei de *Amblystoma talpoideum* prin epiderm provenind de la un membru inervat. Se evidențiază dediferențiere și regresiune identică (la 21 zile) cu cea care are loc în membrele amputate și denervate (după Thornton).

Conform cercetărilor lui KIORTSIS și DROIN (595), (597), cercetări efectuate pe regeneratul cozii larvelor de urodele, ar exista două zone morfogenetice. Una din aceste zone cuprinde structurile axiale și regenerează sub controlul inductiv al corzii dorsale; cealaltă, care cuprinde țesuturile conjunctive, ar regenera după potențialul morfogenetic al țesutului conjunctiv însuși.

De o importanță deosebită sînt și **interrelațiile dintre țesuturile epiteliale, blastemale și sistemul nervos local.**

În cursul regenerării normale, fibrele nervoase în creștere regenerativă invadează țesuturile plăgii și epiteliul regenerativ. S-a constatat că numai fibrele senzitive pătrund în epiteliu, nu și cele motorii (1106), (1129), (1134), (1154), (1230), (1262).

Unii autori consideră că epiteliul posedă factori de organizare care se pot manifesta în absența sistemului nervos, prezența nervilor în epiteliul regenerativ nefiind o condiție fundamentală a regenerării membrelor la urodele (1106), (1134), (1154), (1262). S-a demonstrat experimental că uneori, cu toate că epiteliul este inervat, regenerarea nu are loc. În aceste cazuri, epiteliul regenerativ este asemănător morfologic celui al membrului la care bontul de amputare a fost denervat (1260) (fig. 116); scufița apicală caracterizează tot atît de bine bonturile neregenerative și persistă un același număr de zile ca și în cazul bonturilor regenerative (1260). Aceste experiențe nu țin însă seama de faptul că membrul a fost inervat doar prin fibre motorii, care nu pătrund în epiteliul regenerativ (1126). Or, se știe că scufița apicală este invadată doar de fibrele senzitive ner-

Scanned with OKEN Scanner

voase. Prezența fibrelor nervoase în epiteliul regenerativ nu ar fi, după acești autori, suficientă pentru declanșarea ulterioară a regenerării. De asemenea, nici interacțiunea chimică la distanță dintre nerv și epiteliu nu ar avea acest rol.

O probă în acest sens este furnizată de larvele aneurogene sau slab inervate, la care producerea unei scufițe excentrice este urmată de formarea unui blastem excentric, independent de prezența nervilor. Ar avea deci loc agre-

Fig. 117. — Scufiță apicală excentrică cu formare de blastem subiacent (după Thornton).

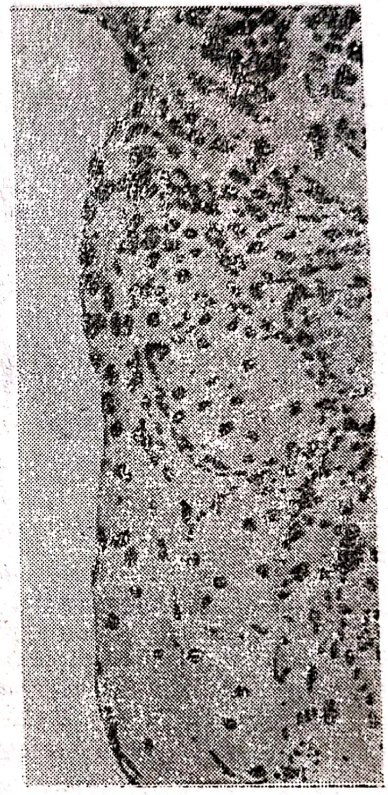


Fig. 118. — Membru anterior al unei larve aneurogene de *Ambystoma* la 21 de zile după amputare și completă înlocuire a epidermului prin epiderm provenit de la un membru inervat. Se observă regresiunea regeneratului (după Steen și Thornton).

gări asimetrice de celule blastemale în absența fibrelor nervoase, de unde concluzia că axonii nu ar fi implicați în directivarea celulelor dediferențiate spre scufița apicală și că numai epiteliul are un rol în agregarea blastemului (1187), (1262), (1267) (fig. 117).

În fine, s-a mai constatat că înlocuirea epiteliului bontului membrelor amputate și denervate ale larvelor de *Ambystoma* cu epiteliu provenind de la larve inervate nu este urmată de regenerare (1187) (fig. 118).

Majoritatea autorilor contemporani consideră însă că stabilirea și menținerea scufiței apicale depind de o inervație timpurie adecvată, care a fost dovedită la *Ambystoma* (1256), și că regenerarea epiteliului ar avea o influență

Scanned with OKEN Scanner

asupra procesului de declanşare nervoasă a regenerării (1287). După aceşti autori, ar exista o relaţie cauzală intimă între epiteliu, nervii senzitivi, care invadează epiteliul, şi procesele regenerative ale blastemului. Faza iniţială a formării blastemului ar fi rezultatul direct al pătrunderii precoce a fibrelor nervoase senzitive în epiteliu (396), (1016), (1129), (1132), (1139), (1256),

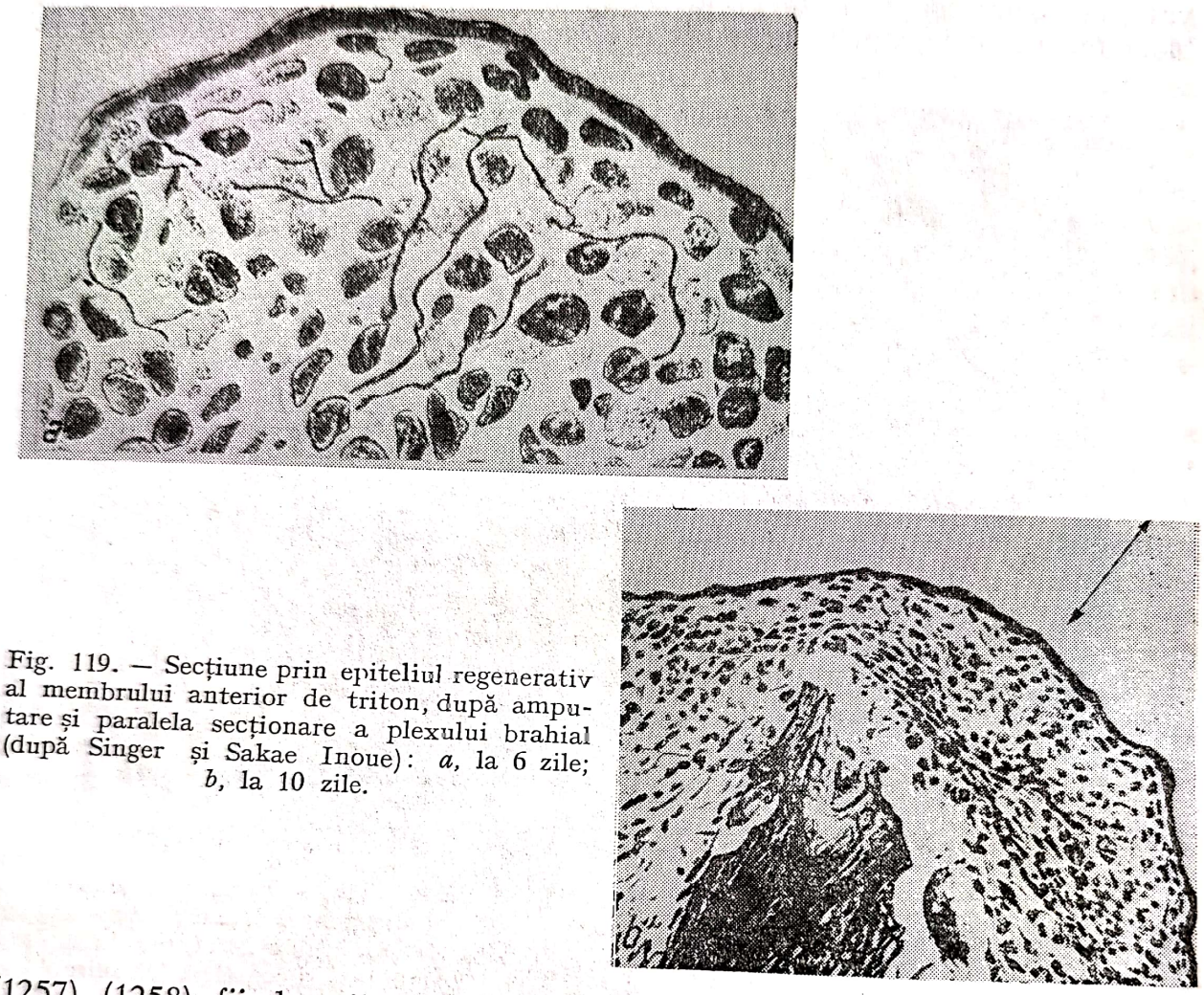


Fig. 119. — Secţiune prin epiteliul regenerativ al membrului anterior de triton, după amputare şi paralela secţionare a plexului brahial (după Singer şi Sakae Inoue): *a*, la 6 zile; *b*, la 10 zile.

(1257), (1258), fiind posibil ca nervii să acţioneze în încheierea dediferenţierii şi în formarea blastemului prin intermediul epiteliului apical (164), (312). Nervii ar exercita influenţa lor trofică asupra scufiţei apicale (396), (1256); la rîndul ei, scufiţa apicală ar orienta regenerarea nervilor (TRAMPUSCH), avînd în acelaşi timp o influenţă asupra procesului de declanşare nervoasă a regenerării.

La baza acestor afirmaţii stă faptul că formarea unei scufiţe apicale în condiţiile denervării complete — ceea ce este posibil experimental — nu ar fi însoţită de regenerare (1145), (1151), (1154) (fig. 119). Uneori, chiar denervarea membrelor amputate, cum este cazul la larvele de salamandră, nu permite formarea scufiţei apicale şi, consecutiv, agregarea celulelor blastemale, ceea ce face ca regenerarea să nu aibă loc. S-a mai constatat că o scufiţă apicală dezvoltată este cauza determinatoare a formării celor patru degete la *Ambystoma*, în timp ce în cazul transplantelor izolate de blastem, atunci cînd este absentă împreună cu nervii respectivi, se formează un membru lipsit de cele patru degete ale sale (1256).

Scanned with OKEN Scanner

În ceea ce privește interrelațiile dintre blastem și sistemul nervos, unii autori opinează pentru lipsa influenței sistemului nervos asupra desfășurării evoluției mezenchimului blastemal. S-au observat astfel cazuri în care regenerarea se produce în absența sistemului nervos (1152) și cazuri în care agregările blastemale pot avea loc în lipsa fibrelor nervoase (1187), (1262), (1267).

Majoritatea cercetătorilor actuali consideră însă că interrelațiile dintre blastem și sistemul nervos sînt determinante în desfășurarea procesului regenerativ. Sistemul nervos ar acționa în perioada încheierii procesului de dediferențiere și în decursul formării blastemului (164). În virtutea regenerării lor polarizate, care este axială și directivată distal, fibrele nervoase ar impune, în primul rînd, o directivare de aceeași natură (spre partea distală) a orientării preferențiale și a migrării celulelor mezenchimatoase în creșterea lor axială.

Studiile histologice făcute pe blastemul regenerativ au arătat în cadrul acestuia existența unei inegalități a distribuției fibrelor nervoase. Cercetările lui SINGER au atestat capacitatea regenerativă predilectă a părților mai bine inervate din blastem, în sensul că creșterea și diferențierea blastemului se fac mai ales în cuadrantul ventral, în cel adiacent central și în cel posterior al blastemului, acolo unde sînt concentrate majoritatea trunchiurilor nervoase. Pe de altă parte, tot cercetările lui SINGER au dovedit că fibrele nervoase, care își au originea în partea restantă a corpului, acționează numai în imediata lor proximitate prin secreția unor substanțe chimice cu difuziune lentă, eficiente doar la acel nivel unde concentrația lor este maximă. Din aceste date rezultă că fibrele nervoase influențează favorabil regenerarea părții pierdute, acționînd direct asupra blastemului cu care vin în contact.

În fine, același SINGER a demonstrat că este necesar un anumit prag în cantitatea fibrelor nervoase pentru realizarea regenerării. Procesul necesită mai degrabă o cantitate adecvată de nervi intacți decît un anumit tip de nervi (senzitivi sau motori), regenerarea făcîndu-se proporțional cu numărul fibrelor nervoase existente. Orice tip de neuron periferic este astfel capabil de a sprijini regenerarea prin acțiunea nervoasă pe care o exercită asupra blastemului. Pe de altă parte, LIVERSAGE (689), (690), (691), (692), (693) a arătat că membrele de urodele transplantate, în cazul izolării de gazda lor, își pot păstra capacitatea de regenerare dacă sînt prevăzute cu un nerv local intact avînd fibre în cantitate suficientă. În denervarea parțială, ramurile colaterale ale fibrelor intacte iau locul fibrelor distruse prin creșterea lor spre periferie și regenerarea are loc atunci cînd se atinge pragul de fibre nervoase necesare. Această ipoteză a lui SINGER este confirmată de numeroase experiențe

Influența sistemului nervos asupra dezvoltării blastemului este confirmată de o serie de probe. Astfel, înlocuindu-se substanța mezodermală a unui membru aneurogen al larvelor de urodele prin substanța mezodermală a unui membru normal inervat, se constată că regenerarea are loc chiar dacă se păstrează pielea aneurogenă (1187). Transplantarea blastemului de membru anterior de axolotl în flanc sau în orbită arată că singurele transplante care formează mai mult de 3 degete sînt cele ale unui blastem puternic inervat. Bogăția inervației blastemului stabilește în ce măsură un transplant poate forma unul sau mai multe degete (312).

Scanned with OKEN Scanner

De asemenea, influența sistemului nervos asupra blastemului este confirmată și prin inhibarea procesului regenerativ după denervare. Un alt argument privind influența sistemului nervos asupra dezvoltării blastemului este suplimentarea nervoasă. S-a constatat că autodiferențierea blastemului transplantat, în regresiune datorită întreruperii inervației sale, este mai completă în urma asigurării unei suplimentări nervoase (107). În mod experimental, fibrele nervoase pot fi deviate în cadrul blastemului potențial, potențînd prin această manoperă alte zone ale blastemului în vederea refacerii părților pierdute. Reiese că potențialitatea diferitelor zone de la nivelul de amputare este egală privind refacerea părților pierdute, dar contribuția electivă a acestor părți în regenerare este legată de impulsul nervos pe care-l primesc. Astfel, devierea trunchiurilor nervoase în direcția cuadrantului anterior și dorsal al blastemului augmentează dezvoltarea blastemului în acest cuadrant (1153).

S-a mai constatat că membrele de *Xenopus* denervate în stadiul post-metamorfotic nu regenerează decît în prezența unei suplimentări nervoase, prin transplantarea nervului sciatic dintr-o parte a corpului în cealaltă, iar augmentarea nervoasă afectează atît talia, cît și forma regeneratului, ceea ce depinde de numărul fibrelor nervoase.

În fine, experiențele lui SINGER au demonstrat capacitatea membrelor de anure adulte de a regenera prin suplimentarea nervoasă a membrului amputat, fapt care dovedește că imposibilitatea de regenerare a membrelor la anure este cauzată de insuficiența fibrelor nervoase apărute în cadrul filogenezei.

Alte cercetări (104) au stabilit pe aceeași linie că în blastemul membrelor de triton amputate, situat în dreptul formațiunilor nervoase, augmentarea sintezei proteinelor este mai marcată cînd porțiunea este mai îndepărtată de aceste formațiuni, ceea ce ar sugera rolul sistemului nervos în dirijarea proceselor regenerative regionale ale blastemului.

Ultimele stadii ale regenerării par însă a fi complet independente de inervație (166), (1081), (1143). Ar urma că interrelațiile mezenchim — sistem nervos se caracterizează printr-o reacție foarte vie, rapidă și tranzitorie a nervilor, care se manifestă în stadiile inițiale ale regenerării, fără ca prezența lor să fie necesară ulterior, în stadiile mai avansate (1134).

Mai trebuie subliniat că raportul dintre sistemul nervos local și blastemul de regenerare are un dublu sens, dat fiind nu numai că sistemul nervos periferic participă activ la procesul de regenerare, dar și că blastemul influențează, la rîndul său, sistemul nervos prin potențialitățile lui reactive.

Dar nu numai sistemul nervos periferic, ci și porțiuni ale sistemului nervos central, situate în dreptul organului amputat (de pildă, măduva spinării), joacă un rol important în interrelațiile mezenchim — sistem nervos. Cum grefa de măduvă a spinării la nivelul țesuturilor înotătoarei caudale a unei cozi amputate nu induce în această regiune caudală formarea de elemente scheletice sau musculare, înseamnă că pentru regenerarea completă a cozii sînt necesare mai multe elemente, și anume măduva spinării, elementele mezenchimatoase ale axului caudal și celulele regiunii înotătoarelor derivate din creasta neurală (597). Zona periferică a teritoriului „coadă", care formează înotătoarele, produce și în absența măduvei o structură conjunctivă, dar realizarea completă a cozii regenerative depinde de interrelația dintre aceste elemente și măduva spinării.

Scanned with OKEN Scanner

După unii autori, influența sistemului nervos ar fi factorul esențial în formarea blastemului de regenerare, relațiile dintre epiteliu și țesuturile subepiteliale fiind pe planul al doilea. Alți autori (1259) consideră însă că, în determinarea procesului de regenerare, epiteliul apical ar avea un rol mai important decît inervarea regeneratului.

În realitate, inhibarea procesului regenerativ rezultă în mod normal după denervare, eliminarea epiteliului regenerativ sau depleția țesuturilor mezodermale. De subliniat însă că regenerarea organelor externe nu are loc atunci cînd se permite în mod experimental interacțiunea dintre țesuturile nervoase și epiteliu, stabilindu-se interrelația dintre sistemul nervos și țesuturile subepiteliale. Reiese deci că interacțiunea primară, decisivă, este cea care se stabilește între țesutul nervos și țesuturile subepiteliale, acțiunea sistemului nervos asupra epiteliului fiind secundară, mijlocită, în procesele regenerative.

Reactivitatea mezenchimului la acțiunea sistemului nervos este, așadar, condiția principală a desfășurării procesului regenerativ. Atunci cînd această reactivitate este slabă, cum este cazul la anure sau la șopîrle, regenerarea organelor externe nu poate avea loc și numai suplimentarea nervoasă permite acest proces.

În concluzie, extincția capacităților de regenerare în experiment sau în decursul evoluției vertebratelor, precum și determinarea procesului regenerativ la animalele înzestrate cu această calitate nu pot fi atribuite exclusiv inervației, absenței epiteliului sau procentelor inadecvate de țesuturi mezodermale, ci mai degrabă lipsei sau prezenței interacțiunilor dintre țesutul epitelial, țesutul mezenchimatos și sistemul nervos (407), în aceste interacțiuni țesutul mezenchimatos jucînd rolul primordial. Nici unul din aceste țesuturi luat separat nu are o specificitate, care este doar rezultatul corelațiilor dintre ele.

Scanned with OKEN Scanner

6 *Regenerarea ca proces sistemic*

Se pune problema dacă diferitele etape în determinarea și diferențierea regeneratului ca organ (labă, coadă), ca segment (stilopod, zeugopod), ca axă de simetrie (labă stîngă sau dreaptă, labă normală sau inversată) sînt stabilite doar local, subsistemic sau sistemic (967)?

Cercetările recente asupra regenerării membrelor și a cozii la urodele arată că această regenerare în condiții normale poate fi privită atît ca un fenomen local, cît și ca un fenomen subsistemic și sistemic. Se știe astăzi cu precizie că procesele regenerative la amfibii sînt determinate nu numai de factori locali, ci și de factori subsistemici și sistemici *(organismic, systemic factors)*. Se poate spune deci că stabilirea unei organizări regionale este rezultatul acțiunii comune a factorilor locali, subsistemici și sistemici.

Din cele descrise anterior cu privire la mecanismele izolate ale țesuturilor regenerative s-a stabilit, prin diferite experiențe, că dezvoltarea elementelor specifice ale unui regenerat este expresia capacităților de autodezvoltare a acestora (1026). Aceste elemente au posibilitatea de a-și manifesta potențialitățile intrinsece, indiferent de locul lor de origine. S-a constatat că, dacă una din sursele de celule mezodermale (schelet, mușchi, țesut conjunctiv) este pierdută, ea poate fi compensată, cantitativ sau calitativ, de către o altă sursă (400). Atunci cînd însă celulele blastemale provin exclusiv dintr-o anumită sursă, ca, de pildă, din pericondrul tijei centrale cartilaginoase a mustăților de pește, eliminarea sursei de mezoderm specific inhibă definitiv regenerarea (393).

Dar potențialitățile de autodezvoltare ale țesuturilor sînt subordonate, la rîndul lor, determinismului realizat prin interrelațiile din cadrul unui subsistem, așa cum s-a dovedit anterior. Potențialitățile morfogenetice ale unei anumite părți nu sînt însă niciodată absolut determinate, ele fiind în funcție de relațiile la care sînt supuse. Astfel, un regenerat care ia naștere într-un subsistem determinat este susceptibil de a se diferenția după tipul structural al subsistemului în al cărui cîmp de acțiune a fost transplantat. Fiecare subsistem este deci centrul de acțiune al unui anumit organizator specific.

Subsistemele stau și ele sub dependența sistemului integral pe care-l reprezintă organismul, sistem realizat pe calea legăturilor nervoase, hormonale și genetice.

Organismul viu reprezintă un sistem integral, alcătuit din părți care, grație multiplelor corelații care se stabilesc între ele, generează o calitate nouă, supraordonată subsistemelor. Înseamnă că organismul ca sistem integral reprezintă nu numai un cumul de subsisteme interrelate, ci și o calitate nouă față de aceste subsisteme.

Scanned with OKEN Scanner

Dintre multiplele corelaţii care se stabilesc între subsistemele unui organism integral, cele mai importante sînt, desigur, cele în care este interesat sistemul nervos. Cercetările şcolii lui SINGER au pus în evidenţă faptul că, în cazul în care corelaţiile stabilite între părţi şi sistemul integral se fac pe seama unui număr mai mare de fibre nervoase ce participă la realizarea regeneratului, competenţa regenerativă a extremităţilor este mai pronunţată.

Este incontestabil că sistemul nervos are şi un rol trofic în procesele regenerative. Totuşi, în fazele iniţiale ale regenerării, rolul său este cel de releu de transmitere a unei comenzi de diferenţiere a părţii pierdute.

Întrucît însă regenerarea este, în primul rînd, un fenomen de creştere şi de diferenţiere, în dinamica legăturilor dintre sistemele tisulare ale unui sistem morfogenetic intervine o schimbare capitală. Sistemul nervos, care iniţial a avut un rol inductor în diferenţierea primelor sisteme tisulare ale unui sistem morfogenetic, în activitatea de restituţie îşi subordonează rolul său trofic primelor corelaţii interioare stabilite între sistemele tisulare componente ale blastemului regenerativ. Deşi subordonat, rolul trofic al sistemului nervos este decisiv chiar în fazele ulterioare ale regenerării, atunci cînd diferenţierea regeneratului este dependentă de corelaţiile interioare ale sistemelor tisulare componente. Astfel, scăderea potenţialităţilor trofice ale neuronilor determină reducerea ritmului de creştere şi, ca urmare, restituţia regeneratului este imposibilă. Reiese deci că, prin funcţia sa trofică, sistemul nervos ajută nu numai la menţinerea, dar şi la reconstituirea structurilor corporale.

Cu cît cantitatea de factor trofic elaborată de neuronii periferici este mai bogată, cu atît regenerarea organelor externe amputate este mai sigură.

Un alt factor de corelaţie în cadrul organismului integral îl formează sistemul hormonal. În cazul unei insulte mecanice, insultă ce privează organismul de una din părţile sale, iau naştere la nivelul leziunii o serie de reacţii, adevărate semnale de alarmă, care determină din partea organismului o reacţie de sistem, mai mult sau mai puţin amplă.

Oricare ar fi natura substanţelor pe calea cărora sistemul viu ia cunoştinţă de lezare (histamină, adrenalină, enzime, hormoni hipofizari sau suprarenali), sistemul viu este perfect informat de injuriile pe care le suportă. Calitatea hormonilor, pe care îi pun în joc mai ales hipofiza şi suprarenalele, condiţionează reacţia de răspuns la injuria mecanică la care este supus organismul.

Nu trebuie neglijat nici rolul posibil al genomului în regenerare. Se pare că, prin dediferenţiere, întregul genom este reactivat în celulele blastemale. El este prezent în diferenţierea celulelor provenite din blastem în mod diferenţial. Această transcripţie diferenţială a genelor este probată prin faptul că, în decursul regenerării ficatului, sînt sintetizate diferite tipuri de ARN, care se deosebesc de ARN sintetizat în ficatul intact (198), (199). Rezultatele lui DE BOTH (108) stabilesc că blastemul poate forma, în transplantare, şi alte elemente scheletale decît cele obişnuite. Este de conceput că aceasta se datorează punerii în libertate a unei informaţii selective din genomul celulelor blastemale, precum şi unui blocaj selectiv al informaţiei din ţesuturile bontului regenerativ.

Care sînt probele experimentale ce stabilesc influenţa organismului integral asupra desfăşurării procesului regenerativ? Pe lîngă experienţele de transplantare şi de denervare, despre care s-a mai vorbit, o categorie impor-

Scanned with OKEN Scanner

tantă de probe este constituită din culturile de regenerate, culturi efectuate fie în unele cavități ale organismului, fie în medii de cultură, deci total în afara organismului.

Astfel, inserarea de fragmente de membre ale urodelelor adulte în cavitatea generală a corpului sau în țesuturile unei gazde adulte oferă anumite răspunsuri la problema dată. Inserarea porțiunilor terminale ale brațului proaspăt amputat de triton adult în cavitatea generală a corpului sau în flancul altui triton adult duce la inhibarea procesului regenerativ, cu excepția unei creșteri neregulate a cartilajului de la capătul oaselor amputate (251), (398), (399). Dar, dacă membrul amputat este regenerativ mai bătrîn (1—2 zile), deci dacă zona este epitelializată, regenerarea are loc la nivelul acestei grefe din cavitatea corporală. De aici concluzia că vindecarea epitelială este esențială pentru inițierea regenerării membrului.

Inserarea intracelomică a membrelor larvelor de *Ambystoma punctatum* permite regenerarea lor, ceea ce corespunde cu observațiile lui Goss, după care regenerate reamputate regenerează în inserția celomică. Natura imatură a bontului este responsabilă, în acest caz, de regenerare (241).

Membrele anterioare de *Xenopus* amputate și inserate în cavitatea generală a unui alt *Xenopus* sînt inhibate în ceea ce privește procesul lor regenerativ, cu excepția unei creșteri neregulate a cartilajului, ceea ce reprezintă un comportament similar celui de la urodele. Regeneratele de 10 zile reamputate și inserate în cavitatea generală arată însă o capacitate normală de regenerare. În membrele anterioare denervate, inhibiția regenerativă este mai pronunțată și se manifestă prin reducerea creșterii cartilajului. Regeneratele reamputate și denervate inserate în celom prezintă o inhibare a regenerării, o distrugere progresivă și o resorbție a țesuturilor care zac proximal față de suprafața de amputare (875) (fig. 120 și 121).

Rolul organismului integral a fost stabilit și prin culturi de organe *in vitro*. Astfel, LECAMP (648), (649) și FIMIAN (330) au arătat că blastemul de membre ale urodelelor adulte crescut *in vitro*, în absența legăturilor sale cu organismul, nu se poate dezvolta. Dar același blastem provenit de la embrion este capabil de diferențiere (1417).

Procesul de cicatrizare a unei răni efectuate la nivelul înotătoarei caudale a unui amfibian urodel se desfășoară mult mai rapid atunci cînd înotătoarea este cultivată izolat în lichidul Ringer-Locke decît în condițiile în care înotătoarea nu este separată de organism și este supusă integrității depline a organismului, regenerarea înotătoarei izolate avînd loc printr-o creștere anarhică a elementelor reparatorii. În experiențele de reimplantare a fragmentului izolat de înotătoare caudală lezată crescută *in vitro*, se constată însă reîntoarcerea la armonia și la încetinirea procesului de regenerare.

Prin efectuarea de culturi izolate ale cozii mormolocilor de anure (475), (1190) au fost semnalate unele observații. Astfel, coada izolată de *Xenopus* se dovedește a fi un sistem autonom, care își păstrează cel puțin timp de 30 de zile integritatea funcțională și morfologică. Toate fazele regenerării au loc și în asemenea condiții. Totuși, dezvoltarea este anormală prin faptul că are loc o inhibare a creșterii începînd cu faza ei de debut, moment în care numărul mitozelor devine mai redus. Eliminarea factorilor organismici nu împiedică deci regenerarea cozii amputate *in vitro*, dar conduce la efecte cantitative diminuate, ceea ce înseamnă că în aceste condiții se exprimă doar scă-

Scanned with OKEN Scanner

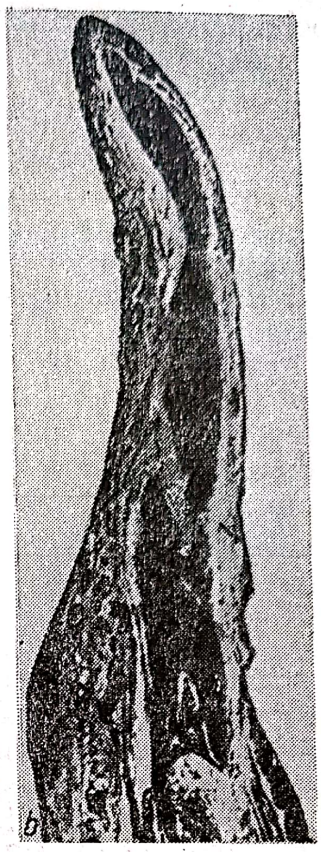
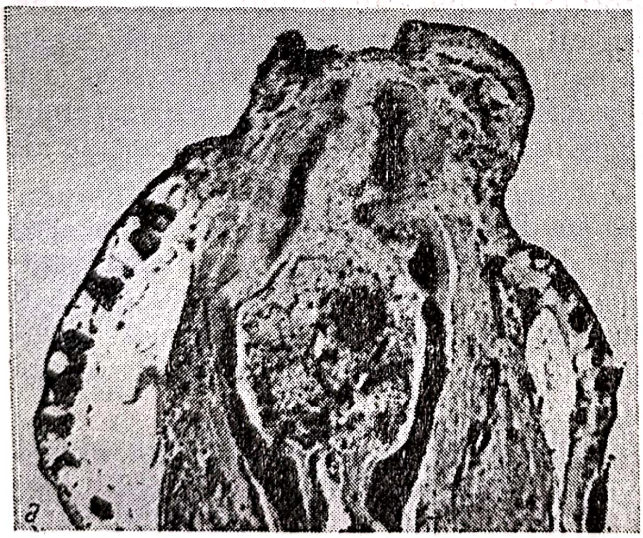


Fig. 120.— Secțiune prin membrul anterior inervat și inserat după amputare în celom (după Pietrzyk-Walknowska): *a*, dezvoltarea epiteliului; *b*, regenerare după 6 luni.



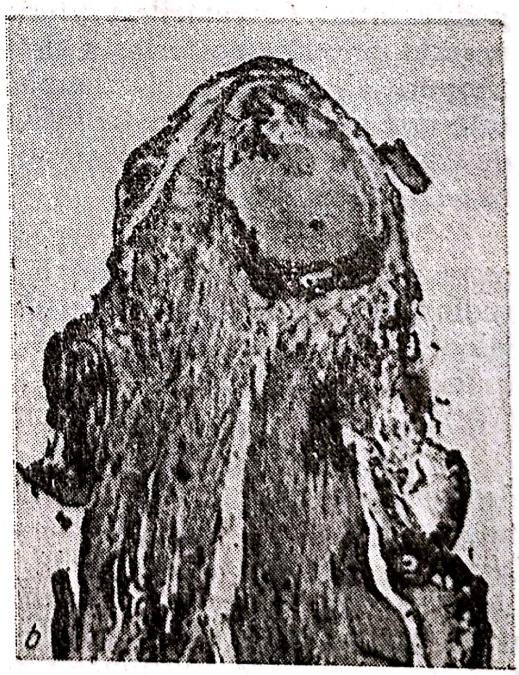


Fig. 121.—Secțiune prin membrul anterior denervat și inserat după amputare în celom (după Pietrzyk-Walknowska): *a*, resorbție masivă și distrugere a țesuturilor; *b*, degenerarea fibrelor musculare.

Scanned with OKEN Scanner

derea potențialităților cantitative legate de creșterea regeneratului. Rezultă că regenerarea poate avea loc și în afara organismului aproape la fel ca în organismul integral.

Pe de altă parte, anumite cercetări efectuate de noi (952), (957) au demonstrat că ficatul șobolanului adult amputat parțial își continuă procesul regenerativ și în afara organismului (în culturi organotipice), trecînd prin aceleași faze ale regenerării ca și *in situ*. Astfel, un fragment de ficat de șobolan adult în regenerare, prelevat la 48 de ore după o hepatectomie parțială și cultivat 3—7 zile, nu prezintă nici o metamorfoză grasă. Prelevat însă la 3 zile după hepatectomie parțială și cultivat timp de 3 zile, evidențiază în cultură o steatoză grasă și multiple celule parenchimatoase hipertrofiate, cu nuclei în stare proliferativă. Prelevat la 6 zile după amputare și cultivat 3—6 zile, prezintă puține vacuole lipidice. Aceste experiențe demonstrează că procesul regenerativ al ficatului are loc în afara legăturilor sale cu organismul integral, la fel ca în organismul integral.

Din aceste cercetări rezultă, ca o primă concluzie, că procesul regenerativ este parțial dependent de întregul pe care îl constituie organismul. În al doilea rînd, procesul regenerativ este atît un proces local, cît și un proces subsistemic și sistemic. Dar, dacă în regenerarea organelor externe predomină procesul local, în schimb în hipertrofia regenerativă a organelor interne predomină procesul subsistemic, în această ultimă formă de regenerare nefiind implicate reorganizări morfogenetice întinse.

Tot ca acțiuni sistemice trebuie considerate determinarea axelor de polaritate în mugurii regenerativi și diferențierea țesuturilor conform acestor axe (414), (415), (469), (470), (471).

Mugurele regenerativ are trei axe, și anume axul longitudinal, axul antero-posterior (medio-lateral) și axul dorso-ventral. Diferențierea axelor de polaritate este independentă de cea a determinismului morfogenetic, putînd preceda sau succeda această determinare.

După MILOJEVIĆ (1924, citat după (1)), axele sînt achiziționate simultan în momentul declanșării regenerării și au o orientare ireversibilă în blastemul nediferențiat. Cercetările a diferiți autori (311), (697) au stabilit că axele transversale (anterior-posterior și dorso-ventral) sînt determinate din fazele foarte timpurii ale formării blastemului. Se pare că determinarea axelor de polaritate este săvîrșită grație fie influențelor exercitate de părțile vecine mugurelui de regenerare (HARRISON), fie propagării în blastem a axelor de polaritate ale bazei (ABELOOS).

Membrele urodelelor regenerează în direcție longitudinală, dar nu pot regenera în direcție transversală. Astfel, dacă un membru este secționat longitudinal și o jumătate a sa este îndepărtată, această jumătate nu poate fi înlocuită. Se constată eventual producerea, pornind de la secțiunea longitudinală, a unei extremități supranumerare, dar nu regenerarea părților absente (WEISS, 1925, GRÄPER, 1926, citați după (1)).

Alungirea proximo-distală a membrului regenerativ este determinată atît de epidermul apical, care își exercită acest rol prin intervenția creșterii distale a blastemului (1207), cît și de cantitatea de mezenchim blastemal, care, la rîndul ei, depinde de nivelul proximo-distal al amputării. În fine, această alungire este dependentă de trunchiurile nervoase. Astfel, în blastemul foarte tînăr, în momentul în care celulele mezenchimatoase emerg din țesuturile bontului și încep să se multiplice rapid, desfășurarea proximo-distală a regenera-

Scanned with OKEN Scanner

tului depinde de contribuția regională inegală a blastemului tînăr la formarea blastemului matur. Pe de altă parte, creșterea timpurie axială a regeneratului reflectă natura axială a regenerării fibrelor nervoase, polarizarea creșterii fiind expresia regenerării și a creșterii nervilor (1153).

Prin marcarea cu albastru de Nil s-a stabilit că marcarea celulară este distribuită proximo-distal de-a lungul axului longitudinal de regenerare, mișcările celulare fiind predominant axiale (1153).

Tot cu ajutorul marcării cu sulfat de albastru de Nil, cercetările au arătat că, în cea mai mare parte, regeneratul final este format din regiunile ventrale, posterioare și adiacent centrale ale blastemului tînăr. Aceste arii dau naștere degetelor și labei, precum și părții distale a antebrațului (1153). Valorile inegale ale regiunilor blastemale nu implică faptul că structurile dorsale nu contribuie la formarea structurilor ventrale și posterioare; ca dovadă, fiecare jumătate a unui membru amputat, clivat longitudinal, poate da naștere unui membru complet (1385). După acumularea inițială, blastemul nu mai primește însă nici o contribuție din partea bontului de amputare, ceea ce concordă cu cercetările (163), (164) care arată că edificarea blastemului, după dediferențierea țesuturilor vechi ale bontului, nu este urmată de contribuția de celule adiționale.

În regenerarea cozii, inducția axului caudal este apanajul aproape exclusiv al jumătății ventrale (motorii) a măduvei (509). Aceasta acționează asupra elementelor mezodermice ale regiunii mediane a cozii, dovadă că în transplantele de mezoderm blastemal caudal prevăzute cu măduvă are loc formarea unui ax caudal supranumerar (144), (509), (513), (595). Pe de altă parte, coarda dorsală nu determină structura înotătoarelor (513), (849), înotătoarea derivînd din crestele neurale (808), ale căror elemente sînt improprii condrogenezei și scheletogenezei (833).

Aspectul sistemic al regenerării este foarte evident și în diferențierea regeneratului. În experiențele de transplantare, Stocum (1207) a arătat că, începînd cu stadiul conic al regeneratului, blastemul conține primordii separate și discrete, care nu se întîlnesc în stadiul blastemului tînăr.

Cercetări efectuate la *Ambystoma* (582) au stabilit că în blastem apar centre de diferențiere, caracterizate prin modificări biochimice. În cercetările în care au fost folosiți atomi marcați în regenerarea membrelor la triton s-a semnalat (846) că în cursul diferențierii se întîlnesc nuclei reactivi în piele, în mușchi și în pericondru, fără ca acești nuclei să apară în cartilaj. Această inegalitate în marcare poate fi raportată la variația populației de celule marcate în decursul stadiilor tinere ale regenerării.

Centrele de diferențiere blastemale nu sînt însă decisive în determinismul diferențierii regeneratului. Transplantarea blastemului de membru în orbita de *Ambystoma punctatum* a permis să se constate că miogeneza, contrar condrogenezei, este dependentă de locul transplantării (878), (879).

Existența potențialităților histogenetice ale blastemului nu este deci suficientă pentru a explica organizarea și diferențierea elementelor blastemale, precum și stabilirea axelor de polaritate ale organului amputat. De fapt, așa cum vom vedea, legea polarității regizează diferențierea regeneratului, iar polaritatea este supusă sistemului în ansamblu. Rezultă că diferențierea țesuturilor regenerative se face sistemic, sistemul intervenind în determinarea și în reglarea elementelor cu multiple potențialități morfogenetice și selectînd

Scanned with OKEN Scanner

potențialitățile care trebuie să se manifeste. Aceasta se petrece datorită existenței și funcționării unor gradienți axiali (TÖRÖK). În sistemele regenerative există o ierarhie de dominanță, fiecare regiune controlînd, în ordine topografică, regiunea următoare. Astfel, în organul însuși, potențialitățile morfogenetice merg descrescînd de-a lungul unui gradient proximo-distal de natură calitativă, gradient grație căruia fiecare segment nu poate regenera decît părțile situate distal față de el. S-a mai spus că potențialitățile primordiale ale blastemului sînt distale, dar că în cursul regenerării are loc transformarea acestor potențialități în realizări proximale sub acțiunea țesuturilor bontului de amputare și a cîmpurilor morfogenetice. Influența acestor țesuturi hotărăște care dintre potențialitățile virtuale trebuie să se realizeze și realizează aceste potențialități morfogenetice prin diferențiere proximo-distală, diferențiere care se săvîrșește de-a lungul axului longitudinal al membrului amputat.

Tot în legătură cu diferențierea s-a mai stabilit că, proporțional cu creșterea progresivă a diferențierii histologice a țesuturilor, capacitatea regenerativă diminuează. La larvele de anure, acest fenomen conduce la pierderea completă a capacității regenerative a membrelor după metamorfoză (573), fapt probabil legat de o diferențiere mai puternică în decursul acestei perioade și probabil datorat apariției unui nou tip de interacțiune între celule, interacțiune care diferă de cea existentă în momentul debutului diferențierii celulare (1008).

Din toate aceste date rezultă că morfohistogeneza regeneratului este produsul a două categorii de procese sistemice, și anume *procesele de determinare*, grație cărora se inițiază primordiile regeneratului, și *procesele de inducție*, grație cărora se realizează structura regeneratului.

La baza *proceselor de determinare* stau *factorii sistemici de ordin genetic*, care stabilesc, de la bun început, *potențialitățile virtuale morfogenetice*, de a căror valorificare depind creșterea și organizarea regeneratului, și *potențialitățile virtuale histogenetice*, de a căror valorificare depinde diferențierea regeneratului.

Din acest ansamblu de potențialități se desprind cele care, prin valorificarea lor reală, caracterizează capacitatea de autodiferențiere a fiecărui țesut regenerativ în parte, valorificare ce poate scăpa de sub acțiunea celorlalți factori sistemici, așa cum demonstrează o serie de experiențe prezentate anterior. Astfel, chiar în experiențe mai recente (27), (28), (30) s-a constatat că, în rediferențierea lor, regeneratele himerice, constituite dintr-un țesut mezodermic al gazdei și un țesut ectodermic al donatorului, urmează propriile lor posibilități genetice, ceea ce exclude alte influențe sistemice.

Aceste posibilități sînt valorificate de *însăși natura celulară a țesutului respectiv* (epitelial, blastemal) și formează subsisteme izolate și autonome, ceea ce face ca în acest stadiu al regenerării regeneratul să constituie un ansamblu de subsisteme cu potențialități parțiale.

Existența potențialităților morfogenetice ale epiteliului și ale blastemului nu este suficientă pentru a explica organizarea elementelor blastemale după un anumit plan structural și după direcția axelor de polaritate corespunzătoare organului amputat. Astfel, blastemul unui membru anterior de urodele are aceleași elemente histologice, cu aceleași potențialități histogenetice și dă naștere la aceleași țesuturi ca și cel al unui membru posterior, dar organizarea lor este diferită. Rezultă că fiecare blastem are o putere de organizare specifică,

Scanned with OKEN Scanner

adică anumite *potențialități morfogenetice*, virtuale sau reale, după cum este vorba de regenerarea în transplante sau *in vivo*. Blastemul este deci capabil, chiar de la începutul dezvoltării sale, de a se diferenția în direcții variate, potențialitățile sale morfogenetice virtuale fiind mult mai largi decît cele reale.

Un blastem nu diferențiază decît o porțiune determinată a teritoriului regenerativ, dovadă că în regeneratul care se dezvoltă pe o secțiune transversală a membrului amputat nu se reproduce decît segmentul distal față de această secțiune, în sens proximo-distal, de-a lungul axului longitudinal. Diferențierea este însă indiferentă sensului în care se efectuează regeneratul pe un ax anumit. Astfel, dacă experimental se obține supraviețuirea părții distale a regeneratului, regenerarea în transplant se produce în sens invers (distal-proximal). Este cazul efectuării a două secționări transversale pe un segment de membru și al transplantării lui inverse pe bontul de amputare al altui membru. În acest caz, secțiunea proximală a segmentului produce o structură distală. Deci, și în regenerarea normală, ca și în cea inversă, are loc regenerarea părții distale. O predominare a structurilor distale a fost revelată și în experiențele în care partea bazală a blastemului paletelor digitale a fost implantată în orientarea inversă, vindecarea realizîndu-se prin acoperirea plăgii cu epidermul flancului (770). FABER (310) consideră că transplantarea mezenchimului blastemal în regiunea apicală este determinată de polaritatea transplantului din această regiune, ceea ce conduce la formarea unui regenerat de structură distală (labă).

Potențialitățile virtuale ale regeneratului se manifestă deci independent de sensul în care se efectuează regenerarea pe axul longitudinal, datorită organizării regionale a blastemului. În regenerarea normală, aceste organizări regionale sînt dominate de apariția secvențională a tendințelor diferențiatoare proximo-distale, diferențierea definitivă începînd la nivelul mezenchimului celui mai proximal, de unde se desfășoară în direcție proximo-distală (108), (767).

Aceste observații concordă și cu faptul că, deși toate țesuturile bontului de amputare sînt prezente la nivelul suprafeței de amputare, cu excepția epiteliului, fiecare țesut poate înlocui pe un altul, potențialul lor de dezvoltare fiind necesar același. Comparînd diferitele țesuturi ale unui bont de regenerare care rămîn la acest nivel după amputarea membrului, se constată o puternică similitudine în ceea ce privește comportamentul lor. De aceea, se poate spune, conform terminologiei lui DRIESCH, că țesuturile bontului membrelor amputate de urodele au o anumită potențialitate prospectivă. Aceste țesuturi, prezente la nivelul suprafeței de amputare, pot să se înlocuiască unele pe celelalte, potențialitățile lor de dezvoltare fiind aproape aceleași. Totuși, *in situ*, potențialitățile lor prospective nu sînt echivalente cu semnificația prospectivă, în sensul că reacția celulelor regenerative, indiferent de originea acestora, este conformă primordiilor lor de bază. Transplantarea sau amputarea distrug echilibrul dinamic al extremității amputate, producîndu-se astfel o stimulare a metabolismului și un *proces de activare nucleară* a celulelor regenerative, activare care culminează în diviziunea lor mitotică. Odată scăpate din contextul lor tisular, aceste celule migrează prin *contact-guidance* (1391) către epiteliul de regenerare și se dediferențiază concomitent. Prin amestecul acestor elemente uniforme, care nu pot fi deosebite unele de altele, ia naștere blastemul.

Scanned with OKEN Scanner

Se poate spune deci că atît blastemul, cît și țesuturile bontului de amputare dispun de marcate potențialități prospective, care nu sînt însă egale cu semnificația lor prospectivă.

Rezultă că diferențierea țesuturilor regenerative se face, în ultimă analiză, pe bază sistemică, sistemul integral intervenind în determinarea și în reglarea elementelor cu multiple potențialități morfogenetice.

Majoritatea realizărilor morfohistogenetice din cursul regenerării se datoresc *selectării* acțiunilor diferitelor potențialități ereditare virtuale în urma proceselor de interrelații, subsistemice sau sistemice, care se impun chiar de la începutul regenerării și care se soldează cu *procese de inducție* între diferitele țesuturi învecinate, deci cu o valorificare diferită (spațială sau temporală) a potențialităților genetice virtuale. Aceste procese se exprimă fie prin procese de excitație (diferențierea regeneratului), fie prin procese de inhibiție (limitarea naturală a procesului regenerativ și inhibarea depășirii scopului regenerării). Din jocul lor rezultă declanșarea regenerării, dediferențierea bontului amputat, creșterea distală a blastemului, organizarea regională a acestuia, diferențierea lui, stabilirea axelor de polaritate și reglarea tuturor proceselor morfofiziologice ale regenerării.

Acest dublu joc între determinare și inducție explică de ce celulele care nu sînt determinate în construirea unui membru pot totuși da naștere la regenerate complete sub influența unui cîmp de organizare puternic, precum și de ce anumite celule cu anumite potențialități regeneratoare pot să se autodiferențieze în absența unui cîmp morfogenetic anumit, cum este cazul grefelor de blastem într-o regiune neutră.

Din aceste motive, diferitele linii celulare ale unui regenerat, în ceea ce privește determinismul morfohistogenetic, sînt independente între ele; fiecare linie este determinată, în primul rînd, genetic, proces care este ireversibil, traducîndu-se printr-o structură globală perfect definită pentru fiecare primordiu. Pe de altă parte, determinismul genetic se datorește acțiunii sistemului integral din care face parte organul amputat.

Începînd chiar cu procesul de migrare și de dediferențiere a celulelor bontului, se poate vorbi de o intervenție sistemică, dediferențierea efectuîndu-se, potrivit terminologiei folosite în embriogeneză, conform unui proces de *modulație* (1390). Totuși, dediferențierea, fază în care se pierde echipamentul celular vizibil, este însoțită de cîștigarea a numeroase trăsături embrionare, ceea ce o face să fie ceva mai mult decît o simplă modulație. Într-adevăr, dediferențierea celulelor regenerative este urmată de apariția capacității lor de diferențiere de-a lungul unor căi diferite (482), (1041). Probabil că pierderea diferențierii histologice nu implică întotdeauna o pierdere a diferențierii altor proprietăți și că procesul de dediferențiere duce la formarea unui status diferențiat, fără semne de diferențiere histologică (1008). Weiss (1397) găsește explicația în faptul că celule de aceeași origine formează în blastemul nediferențiat anumite agregate care conduc la diferențierea specifică a unor grupe de celule diferite. În același sens pot fi interpretate și concluziile lui Holtzer (513), care consideră că mușchii regenerativi se pot diferenția nu numai în blastem, putînd fi formați și din elemente musculare care provin din bontul cozii amputate.

Capacitatea de regenerare în cursul metamorfozei anurelor, așa cum am arătat anterior, este legată probabil de o diferențiere mai puternică în această fază, iar inhibiția morfogenezei și a diferențierii apare ca un tip de interacțiune

Scanned with OKEN Scanner

între celule ce diferă de interacțiunea existentă în momentul debutului diferențierii celulelor (1008). Distincta delimitare a acestor capacități este evidentă doar la anumite specii (salamandră). Cercetările efectuate la *Rana sylvatica* au arătat că acest proces este asociat cu existența unor dificultăți în formarea unei cantități inadecvate de celule dediferențiate. Amputarea membrelor la mormoloci duce, în acest stadiu al morfogenezei, la formarea așa-numitului *blastem critic*, caracterizat printr-o activitate mitotică slabă și prin apariția de celule incomplet dediferențiate. KOMALA (603) a studiat aceste caracteristici, descriind așa-numitul „pseudoblastem" la mormolocii bătrîni de *Xenopus*. Aceste observații privind dediferențierea incompletă a celulelor cu capacitate regenerativă descrescîndă au fost confirmate și electronomicroscopic. SALPETER și SINGER (1041) au stabilit la tritonii adulți că celulele blastemale ale mugurilor regenerativi ajung la un tip celular comun, care apare într-un stadiu relativ tardiv și cu extindere limitată. Alți autori (391) au constatat la larvele de triton și de *Ambystoma* că diferențierea pierdută este datorată unei dediferențieri mai rapide și mai timpurii decît la animalele adulte. GOODWIN (391) presupune că celulele larvare sînt mai slab modificate în stadiul embrionar, ceea ce face ca ele să revină mai ușor la acest stadiu. HAY a observat că celulele membrelor la larve au mai multe trăsături embrionare distinctive decît aceleași elemente la adult.

Stadiul de dediferențiere și cel de creștere a blastemului sînt urmate, după cum se știe, de diferențierea țesuturilor regeneratului, care are loc întotdeauna într-o secvență proximo-distală. Și în această privință unii autori consideră că termenul de „diferențiere" trebuie restrîns la evenimentele care privesc schimbarea morfofiziologică ireversibilă a celulelor, spre deosebire de schimbările reversibile apărute în celule sub influența diferitelor condiții, schimbări pentru care se poate folosi termenul de „modulație" (1393). Observațiile au arătat că proprietățile organice ale celulelor diferențiate pot suferi transformări sub influența unor factori suficient de puternici. Astfel, cozile dezvoltate din bontul cozii amputate de triton și implantate pe membrul anterior de *Discoglossus pictus* pot să se transforme în anumite cazuri în membre. Acestea sînt însă fenomene rare, diferențierea de organ a celulelor fiind îndeobște permanentă (315), (316).

Gradul de diferențiere al celulelor tinere provenind din țesuturile larvare este mai redus decît al celor de la adultul aceleiași specii (1008). Pe de altă parte, diferențierea țesuturilor ce aparțin unui grup anumit, provenind din aceeași foiță germinală, apare ca stabil similară. Astfel, celulele epiteliale nu se pot transforma în celule blastemale. Transformările din cadrul grupului țesuturilor mezodermale reprezintă o modulație instabilă, în contrast cu diferențierea organică, care este echivalentă unei limitări ireversibile a potențialităților de dezvoltare. Cu toate acestea este dificil a se face o demarcare precisă între diferențierea ireversibilă și modulația reversibilă (490), (993).

În ceea ce privește procesul de diferențiere, s-a constatat că legea polarității de natură sistemică regizează acest proces. Corelațiile, interrelațiile și inducțiile reciproce afectează o orientare definită în raport cu axele morfologice și cu elementele de simetrie, diferențierea depinzînd de o anumită parte dominantă subsistemică *(organizatorul)*. Organizatorul fiecărui subsistem morfogenetic își trage proprietățile din funcționarea sistemului care îl precedă, de unde existența unei cascade de inducții (gradienții). Organizatorul, caracterizat printr-un anumit grad de activitate metabolică, activează local țesuturile

Scanned with OKEN Scanner

morfogenetice, stimulîndu-le creşterea şi diferenţierea. Specificitatea sistemelor morfogenetice care se bazează pe ansamblul realizărilor histogenetice este deci efectul acţiunii organizatorului. Selectarea potenţialităţilor morfohistogenetice graţie organizatorului are loc datorită prezenţei şi funcţionării unor gradienţi axiali (TÖRÖK), în sistemele regenerative existînd o ierarhie de dominanţă conform căreia fiecare regiune controlează pe cea următoare în ordine topografică. În organul însuşi, potenţialităţile morfogenetice merg descrescînd de-a lungul unui gradient proximo-distal de natură calitativă, graţie căruia fiecare segment nu poate regenera decît părţile ce-i sînt mai distale. Se ştie că potenţialităţile primordiale ale blastemului sînt distale. În cursul regenerării are loc însă, sub acţiunea ţesuturilor bontului de regenerare, transformarea acestor potenţialităţi în realizări proximale. Influenţa acestor ţesuturi stabileşte deci care dintre potenţialităţile virtuale trebuie să se manifeste, realizînd aceste potenţialităţi morfogenetice prin diferenţiere proximo-distală, diferenţiere care se săvîrşeşte de-a lungul axului de polaritate longitudinal (311), (767), (1153). Aşadar, sensul diferenţierii regenerative este proximo-distal, din aproape în aproape, ca expresie a tendinţelor de diferenţiere proximală ale ţesuturilor bontului şi ale sistemului. Influenţa ţesuturilor bontului este deci legată de fenomenul de polaritate şi de fenomenul sistemic.

Scanned with OKEN Scanner

Modificarea procesului regenerativ prin influența factorilor interni și externi asupra organismului 7

Studiul problemei pe care o abordăm aduce anumite clarificări în cunoașterea mecanismelor procesului de regenerare. În modificarea acestui proces pot interveni numeroși factori interni și externi.

Rolul factorilor interni

O serie de condiții proprii organismului influențează desfășurarea procesului regenerativ. Printre aceste condiții se numără *caracterele plăgii*, regenerarea depinzînd de dimensiunile plăgii și de masa blastemală, precum și de regularitatea plăgii, în plăgile neregulate apărînd formațiuni atipice (776).

De asemenea, *vîrsta organismului în regenerare* este un factor general ce condiționează întregul proces regenerativ. S-a constatat că regenerarea este mai rapidă la larve față de adulții tineri, precum și la adulții tineri față de animalele bătrîne, care regenerează incomplet sau chiar sînt incapabile de regenerare (643), (776). Astfel, epidermul cozii are o influență morfogenetică mai mare atunci cînd provine de la animale adulte, fapt ce explică unele rezultate negative obținute de HOLTZER în transplantul epiteliului cozii larvare pe membrul anterior, transplant care, avînd în vedere vîrsta regeneratului, produce coadă, și nu membru (508), (509). Acțiunea bontului de amputare depinde de asemenea de vîrsta animalului în regenerare. Experiențele lui KONIECZNA-MARCZYNSKA și SKOWRON-CENDRZAK (605) au arătat la *Xenopus* scăderea ratei de regenerare după metamorfoză (2—3 ani) în urma inervației adiționale, în timp ce SINGER, în cercetările sale, a stabilit, dimpotrivă, accelerarea ratei de regenerare după inervație adițională imediat după metamorfoză, ceea ce relevă rolul vîrstei animalului în acest proces.

Influența factorilor externi

Acțiunea radiațiilor ionizante

O mustață de pește, un membru sau o coadă de urodele, iradiate cu o doză suficientă de raze X, nu mai regenerează, indiferent de locul secționării (142), (143), (147), (148), (159), (160), (161), (394), (402), (639), (687), (1009), (1055),

(1199), (1304), (1305). La iepure și la șoarece, regenerarea musculară este abolită în urma iradierilor efectuate în faza de multiplicare a mioblastelor mușchilor scheletici. Iradierea după stadiul în care s-au format sarcoblastele nu mai are efect asupra regenerării (984).

Se pune problema dacă iradierea produce numai leziuni ale celulelor în regenerare sau dacă ea afectează și celulele bontului de amputare. Constatîndu-se că păstrarea țesuturilor bazale neiradiate, acoperite însă de un epiteliu iradiat, permite regenerarea unei extremități iradiate (435), (446), (809), (967), s-a tras concluzia că iradierea țesuturilor regenerative nu suprimă potențialitățile inductive ale bontului (ale teritoriului de regenerare), ci afectează doar potențialitățile regenerative ale celulelor blastemale. Dacă acestea sînt înlocuite prin elemente neinjuriate, regenerarea poate avea loc. Totuși, TRAMPUSCH (1283), (1284), (1285) a arătat că razele X nu alterează numai celulele blastemale, ci lezează și celulele cîmpului morfogenetic. Iradierea bazei conduce la suprimarea regenerării. Implantarea în teritorii morfogenetice iradiate a bonturilor membrelor neiradiate nu conduce decît la formarea unui țesut conjunctiv excesiv.

Leziunile provocate de iradiere ar afecta la nivelul celúlelor blastemale, în primul rînd, procesele de mitoză ale acestora (142), (148), (516), (640), (1304).

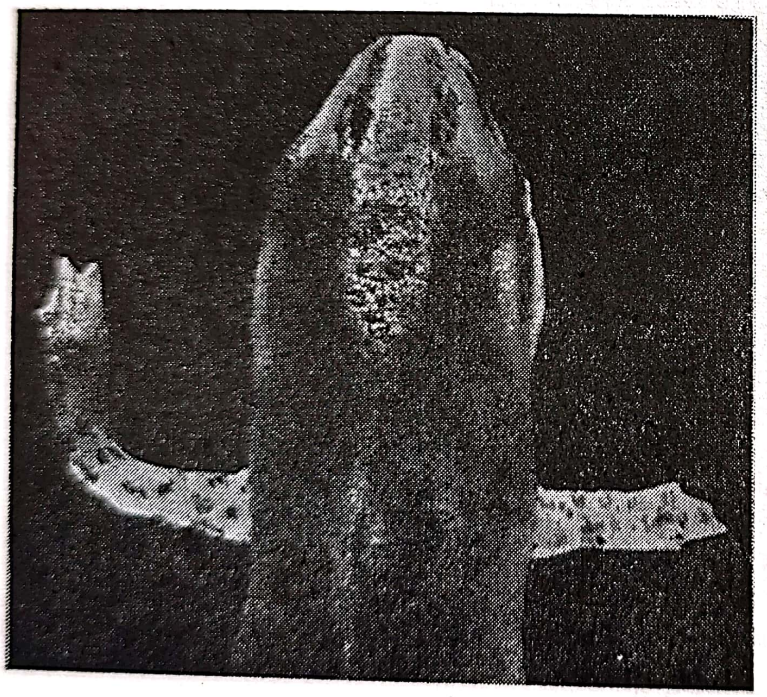


Fig. 122.—Regenerarea membrului iradiat de triton adult, la 4 luni după amputare și autogrefă (după Stinson).

Pentru mulți autori (284), (480), (487), (636), (637), (638), (639), (671), (680), (909), (912), (915), (921), (922), (925), (954), (1002), (1108), (1349), țesuturile iradiate se pot „vindeca" atunci cînd sînt puse în contact cu țesuturi sănătoase (fig. 122). Grefarea, la nivelul membrului iradiat, a unor țesuturi neiradiate ar permite recuperarea capacității regenerative a organului amputat și iradiat.

Astfel, grefarea de piele neiradiată pe extremitatea iradiată a unui membru amputat permite regenerarea membrului (435), (446), (967). De asemenea, regeneratul provenind dintr-o piele neiradiată transplantată pe un membru

Scanned with OKEN Scanner

iradiat conține o mai mare cantitate de țesut conjunctiv și se dezvoltă mai bine decît regeneratele care provin din țesuturi musculare neiradiate transplantate pe membre iradiate (509), (1283).

Grefarea blastemului iradiat (de 7—18 zile) provenind de la membrul posterior sub pielea intactă neiradiată a trunchiului sau a cozii de axolotl sau de *Pleurodeles* este soldată cu regenerarea membrului (1167).

Materialul regenerativ provine exclusiv din țesuturile învecinate locului de implantare. Dacă se iradiază numai o porțiune a membrului, de pildă regiunea genunchiului, și se amputează apoi la nivelul zonei iradiate, regenerarea nu are loc. În schimb, o amputare la nivel mai proximal sau mai distal față de această zonă este urmată de formarea unui blastem (165). Dacă grosimea porțiunii supuse razelor X este de numai cîțiva milimetri, au loc migrări de celule regenerative prin țesutul iradiat. Aceste celule pot forma un blastem, frecvența și rapiditatea regenerării fiind invers proporționale cu grosimea porțiunii izolate (1430).

Atunci cînd s-au făcut iradieri parțiale cu raze X pe extremitățile anterioare ale adulților de *Triturus cristatus*, apoi schimb de piele iradiată cu piele neiradiată a membrului contralateral și amputare subsecventă a celor două membre, s-au obținut un bont cu țesuturile profunde iradiate și cu pielea neiradiată și un bont cu țesuturile profunde iradiate și cu pielea iradiată (967). Ambele bonturi regenerează complet; de aici se pare că celulele blastemale ar avea originea în țesutul conjunctiv dermic sau profund, singurul țesut sănătos în ambele cazuri. În ceea ce privește acțiunea determinantă exercitată de bază (iradiată sau nu), probabil că numai componenta sănătoasă (neiradiată) a bontului, cea care furnizează elementele celulare ale blastemului, este responsabilă și de asimetria inițială a regeneratului. Dacă membrul format este disarmonic, se produce secundar o reglare funcțională a acestei orientări.

Specificitatea grefelor de piele este demonstrată și prin experiențe efectuate pe membrele de axolotl posterioare iradiate. Astfel grefa de piele a capului nu permite restaurarea regenerării, pe cînd grefa de piele abdominală, luată din diferite regiuni situate în afara cîmpurilor morfogenetice, restaurează regenerarea în 20% din cazuri, regeneratele obținute fiind frecvent hipomorfice (636), (640).

Grefele de fragmente ale membrelor sau ale țesuturilor neiradiate (blastem, schelet) pe membre iradiate și amputate conduc la regenerarea unui membru complet (908), (909), (1198), (1199), (1200), (1201), (1202), (1280), (1281).

Autografele de creastă sau de coadă neiradiate pe membre iradiate și amputate permit regenerarea, mai mult sau mai puțin perfectă, a organului de la care a fost recoltat transplantul (282), (284), (635), (682), (684), (1280), (1281).

Grefele de fragmente de organe embrionare sănătoase pe membrul posterior de axolotl iradiat conduc de asemenea la restaurarea capacității regenerative. Astfel, grefele de testicul provoacă regenerarea în 28% din cazuri, grefele de zonă gonială în 40%, iar grefele de splină în 13% din cazuri. Grefele de ovar, de inimă și de ficat nu induc însă regenerarea. Toate aceste rezultate ar indica faptul că cîmpurile morfogenetice nu sînt singurele regiuni capabile de inducția regenerării (944).

Grefele de țesuturi embrionare tinere pe membrul posterior de axolotl iradiat și amputat au arătat că cele mai bune rezultate privind regenerarea se realizează prin grefa de mezoderm gastrular, regenerarea avînd loc în 29%

Scanned with OKEN Scanner

din cazuri, precum și prin grefa mugurilor membrelor anterioare din stadiul formării mugurelui caudal (31%), dar că aceste regenerate au o orientare anormală și prezintă fenomene de hipermorfoză (640).

Numeroși alți autori (146), (148), (402), (625), (640), (967), (1008), (1163), (1167), (1200), (1201), (1305), (1306), (1308), (1309) consideră că o doză suficientă de raze X inhibă, *permanent și ireversibil*, procesul de regenerare, restaurarea țesuturilor iradiate fiind imposibilă. Totuși, BRUNST (147) a arătat că membrele urodelelor pot regenera anormal după iradieri cu doze care nu sînt destul de intense pentru a inhiba capacitatea regenerativă. După SKOWRON, dozele de 5000 r ar opri complet regenerarea. De aceea, regenerarea poate avea originea numai în celulele implantate, și nu în materialul celular provenit din bontul de amputare. Regenerarea obținută prin grefe de țesut sănătos ar fi datorată numai substituirii celulelor iradiate prin aportul celular al transplantelor. Aceste ultime celule ar suporta inducția morfogenă a teritoriului de regenerare. Țesuturile sănătoase, morfogenetic active, grefate pe organul iradiat aduc după sine elemente regenerative și factori de determinare vehiculați de aceste elemente, de unde totala absență de duplicare a regeneratului. În susținerea acestei concepții este adus ca argument faptul că transplantarea de țesuturi sănătoase, dar morfogenetic inactive (de pildă, pielea capului) pe un membru iradiat nu este urmată de regenerare.

De asemenea, sugestia, făcută de WEISS (1397), că în decursul regenerării celulelor disociate și cultivate *in vitro* poate avea loc o reagregare vine să explice fenomenul grupării țesuturilor cu structură diferită în cursul regenerării. ŁAGAN (625) a constatat că celulele disociate și reimplantate s-au reasociat conform originii lor organice, dînd naștere unor agregate separate, care ulterior au suferit modificări în diferențierea fie a structurilor caudale, fie a structurilor unor membre.

Pornind de la aceste date, experiențe efectuate pe larve și pe adulți de salamandră, axolotl și *Pleurodeles* (625), (1008), (1163), (1198) au arătat că suspensiile celulare formate din celule disociate neiradiate provenite dintr-un membru neiradiat și injectate în membrul iradiat și apoi amputat conduc la constatarea că celulele implantate sînt singura sursă de regenerare. Astfel, s-au constatat producerea de elemente scheletale în regenerarea după amputarea membrelor iradiate prin injectarea de celule blastemale neiradiate (1008), regenerarea de membru prevăzut cu elemente scheletice prin implantarea de celule disociate din mușchi și țesut conjunctiv, precum și regenerări anormale în urma injectărilor de suspensii celulare preparate din membre iradiate în membrul posterior iradiat.

Faptul că, după grefa unor țesuturi sănătoase provenite din labă pe o coadă iradiată, se obțin întotdeauna regenerate de labă arată că numai părțile neiradiate determină natura regeneratului. Suspensia celulară preparată din țesuturile cozii și injectată în membrul posterior iradiat și amputat duce, după amputare, la dezvoltarea de organe *tail-like* (625), (1163), în sensul că structurile regenerative se aseamănă mai mult cu înotătoarele decît cu coada, fapt datorat absenței corzii dorsale.

Există însă și unele abateri de la aceste observații. Astfel, blastemul caudal de 7 zile neiradiat, atunci cînd este implantat în membrele iradiate, provoacă la cîteva luni după implantare un regenerat ce pornește de la partea distală a bontului membrului. Acest regenerat are părți componente distincte, și anume atît segmente caracteristice cozii, cît și segmente caracteristice mem-

Scanned with OKEN Scanner

brului (625). În injectarea cu celule musculare disociate din coadă a membrului iradiat, regeneratul se dezvoltă la partea distală a membrului, provenind numai din celulele caudale. Aceasta demonstrează că celulele blastemului proliferează și migrează prin țesutul iradiat către extremitatea distală, unde vin în contact cu epiteliul, ceea ce le permite să declanșeze procesul regenerativ. În alte experiențe, blastemul de membru de 10 zile al unui axolotl negru a fost implantat în membre iradiate ale unui axolotl alb, căruia i s-au amputat degetele. După 3 săptămîni, blastemul negru implantat a devenit vizibil printr-un traseu de pigment negru spre partea distală. El apare deci ca sursă regenerativă în urma faptului că a migrat prin țesutul iradiat (vedeți fig. 107).

Alte rezultate (1167) au arătat că țesuturile iradiate nu iau parte la regenerare și nu își recîștigă proprietatea regenerativă sub influența celulelor blastemale neiradiate, dar că celulele blastemale pot migra prin țesuturile iradiate fără a-și pierde capacitatea de regenerare timp de cîteva luni.

Prin experiențele sale, Łagan (625) a ajuns la o serie de concluzii care permit o mai bună înțelegere a influenței morfogenetice reciproce dintre cele două componente ale regeneratului, componenta caudală și componenta membrelor. Autorul crede că această influență poate fi comparată cu procesele inductive și că stimulii inductori provin din țesuturile acelui organ care, după implantare, produce mai mult țesut conjunctiv decît celălalt. Acțiunea inductivă a țesutului conjunctiv lax al celulelor caudale, implantate în asociere cu celulele membrelor, se manifestă complicat. Componenta caudală a regeneratului nu induce numai o localizare axială a unui singur rînd de cartilaje asemănătoare falangelor *(phalanx-like)*, ci și o dispunere metamerică a mușchilor și cartilajului, considerîndu-se că aceste structuri diferite sînt formate din celulele implantate ale membrului sub influența componentei caudale. Studiind rolul regenerativ al celulelor disociate, Skowron și Roguski (1163) au stabilit că, în absența implantării simultane a corzii dorsale, celulele caudale nu sînt capabile de a forma elemente musculare sau scheletale atunci cînd sînt introduse, împreună cu celule de membre, în membre iradiate. Pe acest considerent, ei apreciază, așa cum dealtfel a arătat și Farinella-Ferruzzi (315), (316), că mușchiul sau cartilajul metameric nu poate deriva din țesuturile caudale și că ar exista posibilitatea schimbării organospecificității celulelor componentei membru. S-ar acumula deci date care indică reversibilitatea celulelor organelor diferențiate, deși acest fenomen s-ar petrece doar rareori, și anume numai în condiții experimentale speciale.

Experiențe efectuate pe triton și pe axolotl (1094) au arătat că animalele care primesc homogenate de blastem în prealabil iradiate au o rată de regenerare mult mai slabă decît martorii, iradierea suprimînd acțiunea regenerativă a homogenatelor.

Pentru refacerea capacității regenerative pierdute prin iradiere este necesară participarea proteinelor native și probabil și a acizilor nucleici din țesuturile neiradiate (908). Această opinie are la bază experiențele care au evidențiat că modificările conținutului de acizi nucleici din regeneratul extremităților de axolotl iradiat cu raze X duc la o reducere a cantității de ARN în a 20-a zi de la operație (1241).

Experiențele de iradiere au permis stabilirea conceptului specificității de organ, dovedindu-se pe această cale că celulele blastemului tînăr al diferitelor organe nu sînt egale în ceea ce privește potențialitățile lor morfogenetice (889), (1348). Această stabilitate a organospecificității celulelor, chiar după

Scanned with OKEN Scanner

dediferențierea lor, și-a găsit confirmarea în experiențele de implantare a suspensiilor de celule din țesuturile disociate în membrele iradiate și amputate. Amputarea acestor membre este urmată de formarea de regenerate, prezentînd în structura lor semne ale organospecificității celulelor implantate. Nu este deci nici o îndoială că regeneratul de membre provine din celule ale membrelor și că organele *tail-like* provin din celule ale cozii (625), (1163).

Prin aceste experiențe se certifică faptul că grefele de țesuturi sănătoase promovează regenerarea, prin activitate autonomă, în membrele iradiate. În toate cazurile se pare că pielea este materialul cel mai favorabil restaurării regenerării. De aici concluzia că celulele implantate constituie factorul principal, dacă nu sursa exclusivă, excepție făcînd epiteliul și nervii, a materialului din care se dezvoltă regeneratul.

Acțiunea radiațiilor neionizante

Anumite cercetări (995) au arătat că administrarea de raze ultraviolete asupra membrelor anterioare amputate de *Ambystoma* conduce la polidactilie sau la oligodactilie. De asemenea, folosirea razelor ultraviolete produce o inhibare a restituției membrelor la triton (TARRACA, 1914, citat după (776); VEJNAROVA, 1924, citată după (1)).

Acțiunea ultrasunetelor

Cercetările lui PREDA și colab. (945) au demonstrat că administrarea de ultrasunete după amputarea cozii la *Triturus cristatus* stimulează proliferarea și diferențierea regeneratului, fenomenele fiind însoțite de o accentuare a reacțiilor histochimice față de regeneratul normal.

Acțiunea substanțelor chimice

O serie de substanțe chimice sînt capabile de a provoca întîrzierea procesului regenerativ sau chiar malformații regenerative ale membrelor la larvele și la adulții de urodele. Este cazul colchicinei (1251), al nitratului de beriliu (1252), (1253), (1254), al carcinogenelor, ca dibenzantracenul și metilcolantrenul (583), (1030), al factorului latiric β-aminopropionnitrilul (188), al atropinei și al altor droguri neurofarmacologice (1149), al coloranților metacromatici, ca albastrul de toluidină, substanțe care leagă heparina, ceea ce demonstrează că heparina este un stimulator al regenerării (222), al semicarbazidelor, care sînt inhibitori ai formării histaminei. Ultimele substanțe nu împiedică regenerarea dacă sînt administrate înainte de formarea blastemului, fapt ce dovedește că semicarbazidele, respectiv histamina, intervin doar în procesul de mitoză absolut necesar expansiunii blastemului (246). Aminopterina, inhibitor al reductazei acidului folic, produce, atunci cînd este folosită în cursul regenerării membrelor anterioare la larvele de *Ambystoma*, polidactilie sau oligodactilie, în funcție de stadiul de regenerare în care a fost administrată substanța. De asemenea, are și un efect de întîrziere a creșterii membrului regenerativ. Efectele aminopterinei pot fi combătute prin administrare simultană de

Scanned with OKEN Scanner

acid folic (616), (617). Administrarea de proteine, de ADN sau de ARN poate restaura la axolotl puterea regenerativă pierdută prin iradiere (922), (924), (1240). β-Mercaptoetanolul, conținînd gruparea -SH, și ditiodiglicocolul, conținînd funcția -SS-, au anumite influențe asupra procesului regenerativ la larvele de *Pleurodeles*, *Xenopus* și *Rana temporaria*. Primul inhibă regenerarea (diminuează activitatea mitotică, stimulează ARN, dar nu acționează asupra ADN), iar al doilea stimulează ADN (257).

La *Rana pipiens* și la *R. clamitans* s-au mai făcut experiențe pe exemplare abia metamorfozate, la care s-a amputat membrul anterior (la mijlocul antebrațului) și s-a denervat bontul, fie în momentul amputării, fie la 8—17 zile mai tîrziu. S-a acționat apoi asupra bontului cu o soluție saturată de clorură de sodiu (metoda lui Rose), ceea ce conduce la regenerarea postmetamorfotică a membrelor acestor anure, care în mod obișnuit sînt lipsite de proprietatea de regenerare. În timp ce la animalele de control s-a constatat o regenerare în toate cazurile tratate, un număr foarte mic dintre animalele denervate au prezentat acest proces, care s-a produs, dealtfel, cu o mare întîrziere (1148).

S-a mai observat accelerarea regenerării cozii la larvele de *Xenopus* de 25 de zile sub acțiunea unei soluții de 0,45% bromură de sodiu, care are influență asupra diencefalului și asupra centrilor vegetativi bulbo-spinali (567).

Efectele extraselor de r-DNP din ficatul regenerativ constau în stimularea regenerării hepatice după hepatectomie parțială la șobolani (658). Pulberea de lignit intensifică de asemenea regenerarea ficatului rezecat parțial (740), (741). Puromicina previne hipertrofia reticulului endoplasmatic întîlnită la șobolanii de control în regenerarea hepatică după hepatectomie parțială (1192). Colina frînează, histamina activează, iar metionina nu are efect asupra regenerării hepatice în urma hepatectomiei parțiale la șobolan (698). Administrarea unor amestecuri hibernizante are influență negativă asupra regenerării hepatice (739).

S-a mai constatat că faza de dediferențiere a regenerării este inhibată de anumite aminocetone, faza de creștere este inhibată de colchicină, iar faza de diferențiere de chinoxalină (LEHMANN și BRETSCHER, 1925, citați după (1)).

Intensificarea sau atenuarea metabolismului și a respirației tisulare, produse de unele droguri ce acționează asupra sistemului nervos, sînt însoțite de transformări morfologice la nivelul plăgilor, tabloul microscopic și modificările substratului biochimic fiind corelate între ele (HUMULLO, citat după (730)). Dealtfel, în regenerarea plăgilor cutanate la șobolani, glicogenul și fosfataza alcalină prezintă modificări de etapă, legate de accelerarea sau de inhibarea proceselor regenerative prin folosirea de excitanți sau de inhibitori ai sistemului nervos (949). Procesul de regenerare a pielii și a organelor interne este mult influențat de acțiunea diferitelor droguri asupra sistemului nervos. Astfel, reacția regenerativă a plăgilor cutanate la șobolani este mai rapidă în urma excitării și mai lentă în urma inhibării sistemului nervos central. Reacția regenerativă a epiteliului se reglează prin sistemul nervos central, fiind intensificată în excitarea acestui sistem și slăbită în inhibiția lui. Excitarea sistemului nervos central prin cofeină provoacă o rapidă vindecare a plăgii, în timp ce inhibarea acestui sistem prin natriu bromat produce o vindecare mai lentă. Reacția cea mai favorabilă apare în cazul tratamentului întrerupt al sistemului nervos central în momentul efectuării plăgii, ducînd la o refacere biologică a structurii pielii, pe cînd tratamentele continue conduc la o refacere mai defectuoasă. Tratamentul cu cofeină produce o epitelializare

Scanned with OKEN Scanner

mai precoce, dar mai defectuoasă, epidermul fiind mai subțire, la o colagenizare cu tendință spre scleroză mai pronunțată și mai rapidă. Tratamentul cu natriu bromat întrerupt duce la o epitelializare mai lentă, în care epidermul este mai gros și însoțit de o diferențiere normală a elementelor dermice (fără fibrozare) (130), (514), (949). Excitarea sistemului nervos central produce, în vindecarea plăgilor musculare, o accelerare a regenerării (450). Excitarea cronică a scoarței cerebrale la șoareci conduce la o inhibare foarte puternică a regenerării ficatului (610). Sub influența injectării de natriu bromat, la câini se constată o intensificare a proceselor exsudative și infiltrative în jurul plăgii în prima fază a vindecării acesteia și o accelerare în vindecare (256). În fine, administrarea de narcotice sau hipnotice, care restabilesc echilibrul nervos, are drept rezultat cicatrizarea ulcerațiilor trofice la om (1317).

Rezultă că excitația nervoasă realizată prin intermediul substanțelor farmaceutice conduce la o intensificare a reacției regenerative a epidermului, în timp ce inhibarea inervației periferice duce la o slăbire a acestei reacții. Țesuturile dermului prezintă o reacție regenerativă întîrziată, oricare ar fi tulburarea inervării segmentului respectiv.

Vitaminele au și ele o acțiune asupra regenerării. Astfel, vitamina B_{12} protejează parenchimul hepatic în cursul regenerării, anulînd o serie de modificări negative ce apar în ficatul regenerativ de șobolan nevitaminizat (951). De asemenea neutralizează efectul inhibitor al cortizonului asupra regenerării hepatice (736). Vitamina E, combinată cu seleniu, stimulează, la rîndul ei, regenerarea ficatului de șobolan (747). Vitaminele C, K, PP și D_2 s-au dovedit hepatoprotectoare, potențînd procesele regenerative și împiedicînd steatoza hepatică și degenerările necrotice (70), (214), (215), (216), (217), (267), (289), (723), (736), (940), (941), (948), (1319).

În ceea ce privește acțiunea hormonilor, tiroxina inhibă procesul regenerativ al membrelor de triton (480). Folosirea ACTH și a cortizonului după hipofizectomie, care inhibă regenerarea membrelor la *Triton viridescens*, permite membrului animalului hipofizectomizat să regenereze (1085), (1086). ACTH și cortizonul influențează puternic, la iepuri, formarea țesutului de granulație (170), (964), (965), (966). În rănile digitale la șoareci, ACTH și cortizonul determină o întîrziere a regenerării epidermice, nu prin acțiunea strictă asupra migrării și proliferării epiteliului, ci, secundar, prin dereglarea corelațiilor epidermo-dermale, fapt ce întîrzie formarea unui nou epiderm pe suprafața rănii. Acțiunea acestor substanțe se exercită îndeosebi asupra dermului, a cărui regenerare este întîrziată. La acest nivel se observă scăderea numărului și a migrării fibroblastelor, întîrziere în formarea colagenului și în repararea vaselor. Se constată astfel absența regenerării dermului timp de o lună, precum și susceptibilitatea separată, la influențele hormonale, ale celor două componente ale pielii, epidermul și dermul, după efectuarea plăgii. Se pare că statusul hiperadrenal afectează și întîrzie indirect închiderea epidermului, dar alterează serios constituenții dermici și mezodermali (1091). După unii autori (153), glucocorticoizii și ACTH accelerează procesele de diferențiere a celulelor tinere, ducînd la senescența lor precoce, ceea ce determină inhibarea procesului regenerativ.

Regenerarea cozii și a membrelor la larvele de *Pleurodeles*, sub acțiunea hormonului gonadotrop corial la concentrații de 120—240 μg/ml, este frînată. Se produce epitelializarea rănii, dar nu are loc o regenerare completă nici după 288 de ore (765).

Scanned with OKEN Scanner

S-a mai stabilit că hormonul paratiroid stimulează regenerarea la mamifere (1312).

Acțiunea factorilor biologici

Diferitele extracte, homogenate sau triturate de organe vegetale și animale au un rol important asupra regenerării organelor externe și interne la vertebrate (605), (887), (895), (896), (897), (899), (1012), (1130), (1133).

Astfel, praful de alge, datorită conținutului său bogat în proteine totale și în vitamina B_{12}, extractul de *Cynara scolymus* și extractul de *Melilotus officinalis* stimulează regenerarea ficatului amputat (335), (738).

Extractele, trituratele și hidrolizatele de organ homolog au un efect pozitiv asupra stimulării procesului de restituție a organului amputat la amfibii și la mamifere.

Astfel, extractele, trituratele și hidrolizatele de ficat stimulează regenerarea ficatului (749). Se pare că efectul extractelor de organe regenerative este mult mai puternic decît cel al extractelor de organe normale, cel puțin la unele animale (527). Unele cercetări (975), (1328), (1330), (1331) sînt edificatoare în acest sens, stabilind că extractele de ficat regenerativ de șobolan prelevate la 24—48 de ore de la hepatectomia parțială se dovedesc cele mai eficace. După 6 zile de la intervenție, extractul de ficat regenerativ produce, la receptor, modificări mai puțin evidente.

Se pun în discuție două probleme. În primul rînd, care este efectul acestor extracte la nivelul organelor „țintă"? În al doilea rînd, care este factorul activ din extract răspunzător de intensificarea regenerării la nivelul organului amputat?

Se observă că, în urma administrării de extract homolog de organ regenerativ, au loc la nivelul „țintei" o serie de modificări care pledează pentru o intensă activitate metabolică, vizînd mai ales sinteza acizilor nucleici și, implicit, a proteinelor citoplasmatice. Astfel, diametrul nucleilor scade, numărul nucleolilor, precum și cantitatea de ARN în nucleoli și în citoplasmă cresc. Nucleolii iau o poziție periferică, fenomen legat de cedarea acizilor nucleici nucleari către citoplasmă. Intensitatea crescută a reacției Feulgen în nucleu pledează pentru augmentarea cantității de ADN. Se modifică, de asemenea, tabloul acizilor aminați serici, crescînd cantitatea de leucină, fenilalanină, metionină, prolină, acid glutamic. Toate acestea indică o intensă activitate proliferativă la animalele receptoare.

Asupra naturii factorului activ din extractul de ficat s-au purtat o serie de discuții. Este cert că există deosebiri între fracțiunile dezoxiribonucleoproteinice extrase din ficatul normal și cele extrase din ficatul regenerativ.

Se află încă în discuție problema dacă componenta proteică sau cea de acizi nucleici dintr-un extract de organ regenerativ reprezintă factorul activant al proceselor regenerative la receptor. Acest factor stimulator al regenerării este termolabil, deci este de natură enzimatică, proteică. Problema cîștigă un spor de complexitate dacă ne gîndim că și alte substanțe, a căror natură este diferită de cea a proteinelor, pot acționa ca stimulatori în procesele restituționale. În orice caz, oligoproteinele, albuminele și globulinele, precum și fracțiunile dezoxiribonucleoproteice din ficatul regenerativ reprezintă incontestabil stimulatori ai proceselor regenerative.

Scanned with OKEN Scanner

Cercetătorul român REPCIUC consideră că factorul activant al proceselor regenerative l-ar reprezenta necrohormonii eliberați de ficatul lezat. Factorul stimulator al creșterii din necrohormoni, factor de natură lipoproteică, nu ar fi însă specific. Extractul din ficatul regenerativ de iepure accelerează mitozele din ficatul de șobolan. REPCIUC este de părere că numai lipidele extrase din ficatul necrobiotic acționează direct asupra hepatocitelor, stimulînd proliferarea acestora. Toate celelalte substanțe stimulatorii ale regenerării ficatului ar avea doar o acțiune secundară, exercitîndu-și efectul în mod indirect. Ele ar leza uneori imperceptibil hepatocitele, ceea ce ar avea drept efect eliminarea de factori stimulatori ai creșterii.

Oricare ar fi natura acestui factor, prezența lui în sîngele animalelor operate, private de o parte a structurilor lor, este de necontestat.

S-a mai constatat că hidrolizatele de inimă stimulează regenerarea miocardului la mamifere. Astfel, miocardul lezat prin diatermie și tratat prin hidrolizate sau extracte de miocard regenerativ este mai puternic stimulat. Hidrolizatele accelerează liza țesuturilor necrotice, induc o dezintegrare și o dediferențiere extensivă a mușchilor și stimulează astfel apariția de microcelule și proliferarea celulară, care conduce la formarea de noi mușchi în dreptul focarului de injurie. Acești mușchi sînt separați de mușchii zonei marginale a focarului printr-o pătură groasă de țesut conjunctiv. Dezvoltarea lor este anormală; ei se dezintegrează la 2 luni de la apariție, fiind înlocuiți printr-o cicatrice.

Principiile active ale extractelor par a fi proteinele și nucleoproteinele, cele mai active substanțe de stimulare a regenerării fiind produșii de descompunere ai acestor substanțe. Extractele de miocard ar avea deci o acțiune specifică în inițierea regenerării, probabil asociată cu acțiunea unei fracțiuni a proteinelor intracelulare. Proba o constituie faptul că extractele își pierd capacitatea stimulatorie atunci cînd sînt supuse la temperaturi înalte. Procesul constă în activarea organospecifică a procesului de distrugere și de dediferențiere, fapt ce conduce la restaurarea componentelor tisulare. În cazul miocardului, dezintegrarea finală se datorește însă prezenței țesutului conjunctiv activ, care înconjură focarul de regenerare și care, invadîndu-l, conduce la formarea unei cicatrice (913), (920), (923), (1298), (1301), (1392), (1395).

S-a mai constatat că *extractele heterologe* au un efect negativ asupra procesului de restituție a organelor amputate. Astfel, extractul de mușchi frînează regenerarea hepatică a receptorului.

În culturile de organe, compoziția mediului de cultură determină procesele de diferențiere. Este astfel cazul diferențierii mușchiului striat în culturile de mioblaste provenite din blastemul caudal al șopîrlei *Anolis* (1121).

Acțiunea factorilor mecanici și a altor factori fizici

La vertebratele la care regenerarea organelor externe are loc și la adult, stimularea capacității regenerative a putut fi obținută prin ligatura membrului amputat, printr-o injurie mecanică a pielii ce produce o iritație repetată a rănii sau prin implantarea de substanțe iritante (167), (797), (925). Cele mai interesante experiențe au fost făcute însă asupra vertebratelor la care rege-

Scanned with OKEN Scanner

nerarea organelor externe nu are loc la adult, cum este cazul la anure și la șopîrle. Iritarea repetată a rănii prin tratarea suprafeței ei cu o soluție concentrată de clorură de sodiu incită formarea blastemului și regenerarea membrului la anure (1010), (1012). Îndepărtarea periodică a epiteliului plăgii la șopîrle are același efect.

În aceste ultime cazuri se pare că ar fi vorba de apariția în țesuturile injuriate a unor substanțe neidentificate, care ar cauza dediferențierea și formarea blastemului. Se consideră că injuria repetată previne formarea timpurie a cicatricei și, consecutiv, posibilitatea de regenerare (1010). Alți autori sînt de părere că trauma scade necesitatea influenței nervoase și augmentează răspunsul țesuturilor plăgii la influența nervoasă existentă (1140), (1148) sau că injuria repetată provoacă scăderea proprietăților țesuturilor sub forma ridicării pragului de sensibilitate față de stimulii regenerativi după metamorfoză (1130). Ipoteza că injuria repetată a plăgii augmentează capacitatea țesuturilor nenervoase la răspuns față de acțiunea nervoasă explică posibilitatea de regenerare a transplantelor de membre la triton, unde puține fibre nervoase permit regenerarea, trauma transplantării dînd țesuturilor competența de a răspunde unui număr redus de fibre (1152).

S-a mai constatat că stimulul electric sau ridicarea temperaturii ambiante produc o stimulare a proceselor regenerative de creștere și de diferențiere la axolotl (VEJNAROVA, 1924, SCHMALHAUSEN, 1925, citați după (1)).

Rolul alimentației animalului

Unii autori susțin că subalimentația conduce la o creștere mai rapidă a regeneratului. Cert este că animalele cu capacitate regenerativă își păstrează doar această proprietate și în condiții de inaniție. Nu mai puțin adevărat este faptul că, printr-o dietă dirijată, procesul regenerativ poate fi îmbunătățit. Îmbogățind elementele nutriționale, procesul regenerativ poate fi simțitor corectat. Această constatare, fiind de interes practic, și-a găsit aplicarea în regenerarea organelor interne.

Din toate datele expuse reiese că secvența proceselor morfologice (citologice, histologice), biochimice și fiziologice ale regenerării este controlată, cantitativ și calitativ, atît de agenții externi, cît și de agenții interni (genetici sau epigenetici, proximali sau distali, sistemici sau locali).

Scanned with OKEN Scanner

8 *Heteromorfozele*

Așa cum s-a arătat la începutul prezentei monografii, heteromorfozele constau în formarea, la nivelul leziunii, a unui țesut sau a unui organ impropriu locului respectiv. Este cazul formării de organe supranumerare, de organe asimetrice etc.

În general, heteromorfozele se deosebesc de partea normală pe care o înlocuiesc fie din punct de vedere cantitativ, fie calitativ. Astfel, talia regeneratului poate fi mai mare (hiperregenerat) sau mai mică (hiporegenerat) față de organul înlocuit. În alte condiții, regeneratul poate fi o adevărată monstruozitate, care nu se aseamănă cu nici o parte a corpului. Nu mai puțin cunoscute sînt cazurile în care, la nivelul leziunii, apar formațiuni duble, triple sau chiar cvadruple. Fenomenul este întîlnit atît la nevertebrate, cît și la vertebrate.

Heteromorfozele apar adeseori spontan, alteori pot fi induse pe cale experimentală.

Determinismul heteromorfozelor trebuie căutat, pe de o parte, în acțiunea neobișnuită a condițiilor de dezvoltare externe, iar pe de altă parte în particularitățile organismului lezat, particularități legate mai ales de vîrsta ontogenetică a acestuia.

La vertebrate, cele mai multe heteromorfoze sînt reprezentate prin organe supranumerare. În cele ce urmează ne vom ocupa de determinismul lor cauzal.

S-a constatat că aspectul suprafeței de amputare pare a avea un rol deosebit în determinarea regeneratului. O plagă neregulată, prea extinsă, o pierdere mare de substanță vie ar conduce la formarea de regenerate atipice, neregulate, orientate vicios.

Cercetări experimentale au stabilit că formarea de organe supranumerare este datorată unor cauze multiple.

Astfel, subdivizarea subsistemelor morfogenetice cu potențialități parțiale conduce la realizarea de centre sinergice în urma tulburărilor mecanismelor corelative. Această subdivizare este rezultatul traumatismelor, al introducerii de corpi străini, al transplantelor la nivelul cîmpurilor morfogenetice sau chiar al vicierii informației ereditare (776). În cazul cel mai frecvent, suprafața de amputare este divizată prin bride cutanate în mai multe zone. Fiecare zonă funcționează pe cont propriu și, în consecință, dă naștere la regenerate multiple.

Locul de transplantare, care influențează dezvoltarea blastemelor transplantate, își are de asemenea importanța sa. Astfel, transplantele homo- și xenoplastice de diferite țesuturi, de pildă de rinichi (1027), (1028), (1194)

Scanned with OKEN Scanner

sau chiar de substanțe și țesuturi carcinomatoase (1024), efectuate pe părțile anterioare sau posterioare ale cîmpului morfogenetic al membrului de urodele, conduc la formarea de membre supranumerare în teritoriul morfogenetic al unui membru capabil de regenerare. Aceste țesuturi implantate produc histoliza țesuturilor subepidermice și, consecutiv, formarea de membre supranumerare în urma contactului intim dintre epiderm și țesuturile histolizate (131), (173), (799), (1024), (1026), (1027). Implantarea de țesuturi variate în afara cîmpului morfogenetic nu poate induce membre supranumerare (108), (799). În concluzie, țesuturile flancului nu pot forma structuri de membre, ceea ce nu exclude însă posibilitatea ca ele să contribuie cu potențe specifice la dezvoltarea unor blasteme transplantate, în sensul că celulele flancului, care participă la transplantul de blastem, intră sub influența organizatoare a transplantului însuși.

Schimbarea, prin experiment, a poziției scufiței apicale epiteliale față de țesuturile subepiteliale modifică orientarea regeneratului la urodele, fapt care se rezolvă prin inhibiția regenerării, prin alterarea simetriei regeneratului sau prin inducerea de membre supranumerare (100), (276), (446), (1010), (1012), (1027), (1262).

Locul și felul secționării unui membru au de asemenea o influență asupra dezvoltării regeneratului. În cazul secționării oblice sau în formă de V, regeneratul se dezvoltă în direcție perpendiculară pe planul de secțiune, fiecare din jumătățile secțiunii putînd reconstitui un întreg. Încizarea mediană a regeneratului la axolotl conduce de asemenea la formarea a două regenerate separate.

Aceasta se datorește faptului că, la nivelul membrului anterior al urodelelor — și probabil și la nivelul celorlalte organe externe —, există zone cu potențialități morfogenetice diferite, cu caractere specifice, de polaritate și asimetrie proprii. Unele dintre ele au axe de simetrie prospectivă inversate față de cele ale membrului normal, fiecare zonă fiind caracterizată în regenerare printr-o puternică tendință la dedublare.

Excitațiile locale la nivelul suprafeței de amputare conduc de asemenea la formarea de membre supranumerare. Este cazul folosirii razelor ultraviolete (168).

Membre supranumerare pot fi produse și prin abaterea nervilor membrului în imediata sa vecinătate (100), (115), (445), (594), (597), (696), (1402), existînd o identitate între procesele regenerative ale membrului amputat și inducția extremităților supranumerare prin deviere de nerv (1230). Influența nervilor este nespecifică în procesele de inducție; nervii permit mai degrabă dezvoltarea unui organ din țesuturi avînd potențe organoformatoare și constituind așa-numitele teritorii de regenerare. Abaterile de nervi în flanc la axolotl nu conduc niciodată la formațiuni adiționale, ceea ce înseamnă că regiunile neutre ale flancului, din afara teritoriilor de regenerare, nu sînt capabile de a forma membre supranumerare (440), (445), (1072). Extremitățile slab inervate ale larvelor de urodele, transplantate pe gazde normale, duc la formarea de membre supranumerare (fig. 123). Extremitățile normal inervate, transplantate pe gazde normale, nu permit însă formarea unor părți de membre supranumerare (1441). De aici rezultă că sistemul implicat în formarea părților supranumerare are componente comune cu cele care cauzează duplicația membrelor, adică injuria țesuturilor și influența nervilor, dar că în anumite cazuri, cum este cel menționat, apare o componentă nouă, și anume natura țesuturilor, care se dezvoltă în absența nervilor. Se con-

Scanned with OKEN Scanner

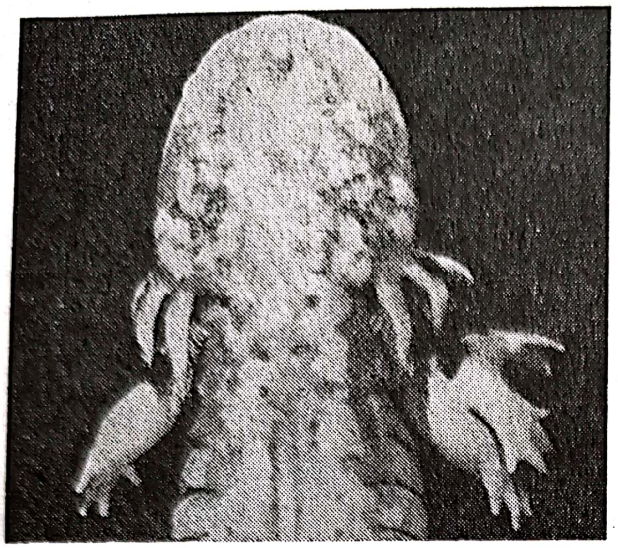


Fig. 123. — Larvă de *Ambystoma*. Transplantarea unei extremități slab inervate pe o gazdă normală. Se observă formarea de membre supranumerare (după Yntema).

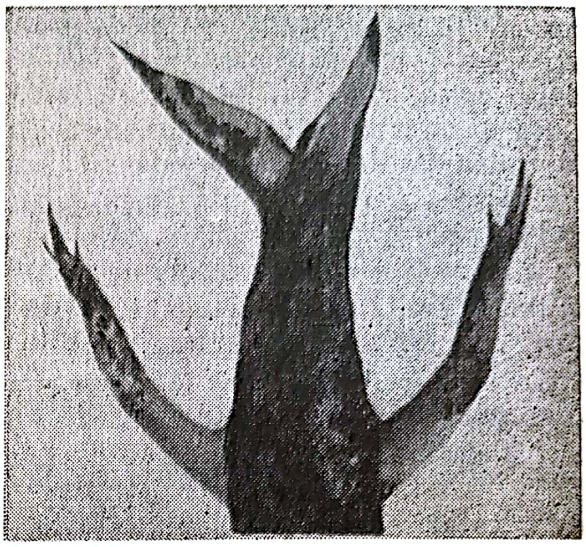


Fig. 124. — Cozi supranumerare la larvele de salamandră, provocate prin devierea măduvei spinării (după Kiortsis și Droin).

stată pătrunderea axonilor în extremitățile slab inervate în cazul transplantării acestora în poziție ortotopică pe gazde normale, fapt evident și în cazul extremităților inervate. În primul caz apar membre supranumerare, pe cînd în al doilea nu apar aceste membre, ceea ce poate fi comparat cu rezultatele obținute în urma amputării membrelor aneurogene la larve. Atunci cînd amputarea s-a făcut la 6—8 zile înainte de transplantare, se constată o mare incidență de duplicare a membrelor. În cazul în care amputarea s-a efectuat în decursul transplantării sau după transplantare, se observă scăderea procentului de duplicații, care în ambele cazuri apar în partea proximală a membrului. Rezultă că țesuturile extremităților slab inervate sau aneurogene se deosebesc de țesuturile normale ale membrului prin faptul că răspund diferit la amputare (1441).

Devierea laterală a măduvei produce cozi supranumerare, compuse fie exclusiv dintr-un ax caudal, fie, dacă deviația este efectuată în direcție dorsală, de un ax surmontat de o înotătoare (597) (fig. 124).

Diferențierea structurilor supranumerare poate fi prevenită prin influențe inhibitorii ale bontului, de ordin cantitativ, de-a lungul axelor membrului sau de natura unui gradient proximo-distal. Aceasta explică de ce membrele supranumerare realizate experimental nu conțin niciodată elemente mai proximale decît nivelul la care membrul suplimentar a fost indus (108), (173). Adiția de țesuturi sau de cartilaj din afara membrului în bont se reflectă întotdeauna printr-o adiție suplimentară de cartilaj în regenerare (400).

Din punct de vedere biologic, problema heteromorfozelor prezintă o maximă importanță atunci cînd este vorba de „încorporarea" lor în organism. De cele mai multe ori, heteromorfozele sînt eliminate de către organism sau sînt supuse unei reglări secundare, care apropie structura și forma lor de tipul primitiv. La reptile, năpîrlirea rezolvă cel mai adesea heteromorfozele.

În cursul funcționării lor, regeneratele atipice se corectează. O adevărată ortopedie funcțională corectează caracterele atipice ale cozii și ale membrelor de triton sau ale înotătoarelor la pești.

Scanned with OKEN Scanner

Regenerare și ontogeneză 9

În paginile acestei lucrări am menționat adeseori cazurile de regenerare a organelor externe la larvele, mormolocii și embrionii de vertebrate, precum și mecanismele lor. Nu trebuie însă omisă nici posibilitatea regenerării organelor axiale mezenchimale în cursul dezvoltării.

Se știe că organele embrionare disociate pînă la suspensii celulare se pot reconstitui ajungîndu-se la cele mai fine amănunte. Mezodermul paraaxial presomitic disociat pînă la fragmente multicelulare, care au fost și amestecate printr-un procedeu mecanic, se refăce rapid pentru a constitui benzi mezenchimale continue. Mai mult decît atît, are loc diferențierea normală a somitelor în direcție cranio-caudală, deși intervenția experimentală a modificat repartiția spațială normală a populației celulare.

În cazul în care materialul celular presomitic a fost separat în contingente, despărțite prin defecte operatorii, s-a observat formarea unor somite supranumerare bine diferențiate dintr-un material celular inițial, care, în mod obișnuit, ar fi dat naștere unui număr normal de somite.

Plăgile din regiunea axului embrionar, caracterizate prin pierderi de substanță, se vindecă. Secționările efectuate imediat sub nodulul Hensen sînt urmate de diferențierea tuturor componentelor axiale embrionare: tub neural, coardă dorsală și mezoderm preaxial, care se poate transforma în somite. Toate aceste elemente se organizează pe seama unui mugure cu tendință de creștere.

Se poate spune deci că organele axiale au certe posibilități de regenerare și chiar de dedublare a componentei mezenchimale, a axului mezenchimal. În general, mezenchimul embrionar dispune de o gamă foarte largă de posibilități de regenerare, de hiperplazii și de compensații intime.

Astfel, după hemoragii provocate experimental în decurs de 24 de ore, embrionii își refac cantitatea normală de sînge. După termocauterizarea crestei ectodermale, corespunzătoare degetului mijlociu al membrelor inferioare, apare hiperplazia degetelor laterale. În fine, fenomene necrobiotice și necrotice sînt urmate de o puternică reacție macrofagică din partea mezenchimului.

Asemenea fenomene reparatorii pot apărea, în urma leziunilor și a hemoragiilor posttraumatice, chiar la embrionul de mamifere și de om. Este suficient să citățm observațiile lui BERADORFER cu privire la cazurile de palatoschizis parțial, de cheiloschizis și gură de lup, regenerate în cursul vieții intrauterine (760), (761), (762).

Scanned with OKEN Scanner

Multiple cercetări au stabilit că între mecanismele morfogenetice, ontogenetice (ale dezvoltării embrionare) și cele ale morfogenezei regenerative există similitudini și deosebiri, puncte de convergență și de divergență, forțe motrice comune și forțe motrice proprii fiecăruia dintre ele. De remarcat că, în timp ce forțele motrice ale ontogenezei acționează succesiv (epigenetic), forțele motrice ale regenerării acționează simultan. Cu toată acțiunea sinergică a forțelor motrice ale morfogenezei regenerative și ale ontogenezei, rezultatul acțiunii celor dintîi este sub nivelul rezultatului morfogenezei ontogenetice. În ambele cazuri există însă o ordine a desfășurării acțiunii acestor forțe, rezultatele acțiunii fiind, dacă nu identice, cel puțin similare.

Tratînd problema regenerării prin prisma „sindromului general de adaptare" al lui SELYE, morfogeneza de restituție apare ca o reacție de alarmă a organismului, ca o consecință a unui stress (1315). Această reacție constă în succesiunea a două faze. Faza „R", regresivă, caracterizată prin fenomene de autoliză, demolări și dediferențieri celulare, este urmată de faza „P", progresivă, caracterizată prin mitoze, agregări și diferențieri celulare. Convergențele morfologice și funcționale din cursul ontogenezei și al regenerării trebuie, în orice caz, căutate mai ales în faza progresivă și mai puțin în decursul fazei regresive. Aceasta cu atît mai mult cu cît creșterea, organizarea și diferențierea reprezintă fenomenele dominante ale oricărei morfogeneze.

Foarte multe cercetări au evidențiat existența unor mecanisme morfogenetice comune regenerării și ontogenezei. Se constată structuri comune, același joc combinat al inductorilor și inhibitorilor, aceleași mecanisme proliferative, aceleași fenomene de diferențiere. Teoria gradienților și concepția de „cîmp" sînt aplicabile la ambele procese. Se mai observă o serie de similitudini privind dinamica modificărilor biochimice, precum și identitatea potențialităților prospective și a autoorganizării.

Astfel, concordanța structurală dintre procesele regenerative și cele ontogenetice a fost stabilită, la membrele de *Xenopus laevis*, în primele faze de dezvoltare anterioare perioadei de diferențiere. Această concordanță este demonstrată prin asemănarea dintre structura blastemului de regenerare înainte de faza sa de diferențiere și structura primordiului embrionar al membrului înainte de diferențiere. Dealtfel, blastemul de regenerare al organelor externe la amfibiile urodele poate fi asemănat cu un primordiu embrionar, alcătuit din celule echipotențiale nediferențiate. După POLEJAEV (900), corpul embrionului constituie, ca și cel al adultului, un ansamblu de teritorii armonioase, relativ autonome și avînd fiecare o tendință morfogenetică determinată. Regularitatea cu care se obțin întotdeauna, plecînd de la același teritoriu, aceleași structuri, în urma inducțiilor celor mai diverse, arată nespecificitatea acțiunii inductorilor și înalta specificitate a reacției țesuturilor. Se pare deci că problemele morfogenetice ale regenerării sînt aproape aceleași ca și cele ale dezvoltării embrionare (311).

Teritoriile de regenerare apar ca avînd mari analogii cu primordiile embrionare, și anume: 1) specificitatea potențialităților morfogenetice; 2) conservarea specificității în transplante; 3) dispariția potențialităților morfogenetice în extirparea totală a acestor teritorii.

Se mai constată că, în ontogenia amfibiilor și a păsărilor, mezodermul mugurelui timpuriu este destinat a forma cea mai mare parte a regiunilor proximale ale membrului (311).

Scanned with OKEN Scanner

În procesul diferențierii unui blastem intervin o serie de fenomene de inducție, analoge celor care au loc în cursul morfogenezei normale a membrelor. În fond, influența scheletului bontului asupra cartilajului care urmează să se reconstituie, influența mușchilor asupra noului schelet, precum și influența epidermului asupra tuturor elementelor membrului nu poate fi considerată decît o veritabilă inducție (805). Întreaga evoluție a regeneratului se desfășoară gradat, de la general la specific, reproducîndu-se astfel, în linii mari, procesele morfogenetice normale (38), (1275).

Alături de fenomenele de inducție, foarte asemănătoare cu cele care au loc în decursul ontogenezei, intervin în procesul regenerării fenomene de inhibiție, care împiedică formarea unor organe ce ar abate regeneratul de la tipul său normal (413). Atît în cursul dezvoltării embrionare, cît și în cursul regenerării, jocul combinat al inductorilor și al inhibitorilor determină diferențierea armonioasă a materialului nediferențiat.

Procesele proliferative ale ambelor fenomene decurg după aceleași mecanisme. Totuși, mecanismul creșterii distale a blastemului regenerativ este diferit de cel al mugurelui embrionar, la ultimul gradientul proximo-distal neavînd nici un rol (311).

Comportamentul capacității regenerative a celulelor blastemale este similar cu așa-numita potențialitate prospectivă a țesuturilor în curs de dezvoltare.

Diferitele experiențe (108), (1207) au arătat că regenerarea blastemului, ca și dezvoltarea mugurelui embrionar, constituie un sistem de autoorganizare în ceea ce privește organizarea proximo-distală.

Fenomenele de inducție și de inhibiție sînt puse în joc probabil de substanțe difuzibile, care acționează cu maximum de eficiență în proximitatea lor spațială.

Din punctul de vedere al modificărilor biochimice, dezvoltarea embrionară și morfogeneza regenerativă se aseamănă, avînd următoarele caracteristici:

— În ambele procese, acumularea ARN este indiciul unei intense sinteze de proteine. În momentul diferențierii citologice se observă regresiunea ARN.

— Teritoriile de intensă activitate morfogenetică prezintă un marcat catabolism glucidic.

— Sinteza proteinelor și utilizarea zaharurilor ca fond energetic sînt, în esență, trăsăturile comune ale oricărei morfogeneze.

— Creșterea și diferențierea teritoriilor embrionare, ca și ale celor regenerative, teritorii caracterizate printr-un metabolism respirator crescut și un conținut bogat de acizi pentozo-nucleici, determină o intensă activitate a dipeptidazelor și a proteinazelor acide.

Pe lîngă numeroasele asemănări existente între procesele regenerative și cele ontogenetice, semnalăm și o serie de deosebiri, care apar cu atît mai evident cu cît este vorba de stadii mai înaintate ale regenerării sau ontogenezei (603). Astfel:

— Fenomenul de reglare sistemic, prezent în regenerare, există și în ontogeneză, dar de natură diferită. Acest fenomen este datorat unui anumit gen de interacțiuni blastomerice din ontogeneza normală. Se știe că fiecare blastomer posedă conținutul informațional al întregului organism, dar destinația lui nu depinde numai de propriile potențialități dictate genetic, ci și de influența celorlalte blastomere ale sistemului embrionar. Aceste inter-

Scanned with OKEN Scanner

relații limitează potențialitățile totale ale blastomerelor, reducîndu-le la cîteva, necesare în a asigura dezvoltarea unui subsistem oarecare. În urma întreruperii acestor interrelații, blastomerele izolate se eliberează de sub influența blastomerelor vecine și actualizează toată gama lor de potențialități interne, care sînt în măsură a genera, pe contul lor, un organism normal. Dar în cursul dezvoltării starea de dependență a părților sistemului augmentează progresiv și capacitatea de reglare diminuează pînă la dispariție. În acest moment, fiecare parte a sistemului limitează conținutul său informațional și reține numai ceea ce este necesar construirii unei arhitecturi armonioase. Părțile diferențiate sînt dependente unele de altele și devin subordonate întregului, programele lor subordonîndu-se programului întregului sistem integrator.

— Primordiile embrionare sînt sisteme echipotențiale autodiferențiate, în timp ce teritoriile de regenerare nu se comportă ca asemenea sisteme, dat fiind că în fiecare punct al unui teritoriu potențialitățile regenerative sînt limitate la producerea unei anumite porțiuni din teritoriul respectiv. Astfel, la fiecare nivel al unui regenerat de membru nu se reproduc decît părțile situate distal de locul amputării. Pe de altă parte, sistemele echipotențiale embrionare au o extindere topografică mult mai largă decît cea a teritoriilor de regenerare cu aceeași destinație morfogenetică.

— Nu există un raport direct între puterea de reglare a embrionului și proprietățile regenerative ale adultului. Astfel, la păsări și la mamifere, care au o putere reglatorie mare, regenerarea este slabă.

— În decursul dezvoltării embrionare, numărul mitozelor, intensitatea proceselor proliferative, întreg ansamblul proceselor de creștere sînt mult mai evidente decît în cazul morfogenezei regenerative.

— Materia primă a morfogenezei embrionare este formată din elemente nediferențiate, în timp ce în morfogeneza regenerativă elementele diferențiate se dediferențiază și devin materia primă asupra căreia își exercită acțiunea factorii inductori. Or, este știut că diferențierea țesuturilor este cu atît mai evidentă cu cît potențialitățile celulelor sînt mai reduse din punct de vedere morfogenetic.

— Morfogeneza regenerativă nu se face pornind de la celule repartizate în foițe sau muguri organogenetici, ca în cazul ontogenezei. Adeseori, regenerarea unui organ are loc pe seama unui țesut diferit de mugurele embrionar. Astfel, cristalinul la amfibii regenerează pe seama irisului, țesut de origine ectomezodermică, în timp ce la embrion cristalinul se dezvoltă pe seama țesutului ectodermic.

— Morfogeneza reparatorie are, în aparență, mai puțină ordine în desfășurarea ei în raport cu morfogeneza embrionară. Ea este mai rapidă și se face sub imperiul altor legi.

— Blastemul regenerativ este dependent de inervație, pe cînd țesuturile embrionare nu sînt dependente de inervație. Diferența este importantă, dar nu esențială, dovadă că regenerarea membrelor în decursul stadiilor tinere ale ontogenezei are loc în absența inervației (1440).

— În dezvoltarea embrionară, cîmpul morfogenetic este divizat în subcîmpuri, pe cînd în procesele regenerative cîmpul morfogenetic este un întreg, dat fiind că reducerea sau absența unuia din componentele sale nu afectează acțiunea obișnuită a cîmpului (dintr-un bont defect poate lua naștere un regenerat complet).

Scanned with OKEN Scanner

—Este incontestabil că plasticitatea țesuturilor embrionare este mult mai mare comparativ cu cea a țesuturilor diferențiate de la adult. Totuși, anumite potențialități, mascate de starea de diferențiere a țesuturilor, pot fi reactualizate de către organism în condiții deosebite. Stimulul rănirii poate avea ca efect readucerea celulelor într-o stare de plasticitate nouă, cu totul aparte, în determinarea unei noi calități (1353). Problema aceasta poate fi transpusă și pe plan genetic. Ne-am putea referi la persistența anumitor potențialități genetice legate de anumite gene care, în condițiile unui anumit context de factori celulari din cadrul țesuturilor diferențiate, și-ar pierde expresivitatea. Stimulul rănirii este deci capabil să readucă aceste gene într-o astfel de stare funcțională încît ele, deblocîndu-se, să exprime, în fenotip, o stare de plasticitate a țesuturilor asemănătoare stării embrionare.

— Mecanismul creșterii distale a blastemului regenerativ este diferit de cel al mugurelui embrionar, la care gradientul proximo-distal nu joacă nici un rol (311).

— Metoda implantării de celule (1008) a pus în evidență că celulele larvare, după implantarea lor în membrele unor animale adulte cu slabe capacități de regenerare, nu-și pierd capacitatea morfogenetică proprie. Pe de altă parte, regeneratele care se dezvoltă din membrele salamandrelor adulte, după implantarea de celule ale membrelor larvelor de salamandră, se aseamănă foarte mult cu membrele dezvoltate normal. În acest caz, accelerarea regenerării poate fi pusă pe seama participării, la acest proces, a celulelor dotate cu o capacitate regenerativă puternică, specifică celulelor larvare. Este probabil că tendința morfogenetică concordantă a celulelor bontului și a celulelor larvare produce o regenerare mai completă decît la martori. Rezultatele acestui experiment par să contrazică posibilitatea inhibării capacității regenerative a celulelor larvare de către țesuturile diferențiate ale bontului animalelor adulte. Dar, dacă diminuarea rapidă a capacității regenerative după metamorfoză nu este legată, la salamandră, de efectul celulelor bontului sau ale blastemului, se poate presupune că ea rezultă din scăderea capacității de dezvoltare a celulelor care formează regeneratul. Acest fenomen poate fi legat de diferențierea progresivă a țesuturilor în cursul metamorfozei (391), (481), (482), (483), (1008), (1041).

Din aceste date rezultă că, deși procesul regenerativ prezintă multe aspecte asemănătoare și diferite în raport cu dezvoltarea embrionară, produsul final al celor două procese este același.

Scanned with OKEN Scanner

10 *Regenerare și filogeneză*

În partea care încheie această lucrare, vom expune propriile noastre păreri în legătură cu fenomenul regenerativ în desfășurarea lui filogenetică. Ne vom folosi de progresele realizate în dezvoltarea biociberneticii, în teoria informației, în reglajul automat, în teoria programării și a codificării, pentru a putea răspunde, în parte, cîtorva întrebări legate de regenerarea organismelor vii. Vom evita astfel o simplă transpunere în limbaj cibernetic a datelor deja cunoscute, referitoare la interrelațiile existente în cadrul organismelor vii, la homeostazia de structură și de funcție a viețuitoarelor. Scopul este de a preciza rolul mecanismelor integratoare, de a atrage atenția biologului, în măsura posibilului, asupra unor noi mecanisme și îndeosebi de a descoperi semnificația evolutivă a acestora.

Considerăm că, în problema fenomenului regenerativ, există cîteva necunoscute, și anume:

— Regenerarea este o proprietate primară sau secundară a materiei vii, cîștigată adaptativ?

— Care este raportul dintre capacitatea regenerativă și poziția sistematică a viețuitoarelor?

— Care este raportul dintre metabolism, reproducere și creștere, pe de o parte, și capacitatea regenerativă, pe de altă parte?

— Care este valoarea regenerării în supraviețuire?

— Care este cauza posibilităților restrînse de regenerare sau chiar a absenței oricărei tentative de restituție la organismele superioare?

Răspunsul la aceste întrebări ne va fi ușurat interpretînd regenerarea organismelor vii ca una din formele de manifestare a sistemelor biologice. Această proprietate este dependentă, pe de o parte, de potențialitățile intrinsece ale organismului, potențialități privite pe planul întregului, iar pe de altă parte de potențialitățile regionale ale subsistemelor componente.

În cele ce urmează vom sublinia o serie de proprietăți pe care sistemele vii le prezintă ca adevărate „mașini cibernetice", tocmai cu scopul de a servi la interpretarea semnificației biologice a regenerării.

— În decursul funcționării lor, organismele vii sînt în măsură să înlăture defectele structurale ce apar haotic, întîmplător, determinate de cauze cunoscute sau necunoscute, în circumstanțele unui mediu în care neprevăzutul este omniprezent.

— Sistemele vii trebuie privite în relație cu mediul lor de viață, furnizorul materiei necesare existenței lor, receptaculul materiei eliberate din sistem.

Scanned with OKEN Scanner

— Condiția existenței sistemelor biologice o reprezintă păstrarea homeostaziei de structură și de funcție a sistemului.

— Menținerea valorilor constante în sistemele biologice este cu atît mai dificilă cu cît mediul în care organismele sînt integrate este mai bogat, mai haotic, mai probabil, mai lipsit de ordine în raport cu organismele vii.

— Aportul de energie exogenă, precum și funcționarea unor dispozitive de comunicație electrochimică și chimică, dispozitive endogene ce se bazează pe principiul conexiunii inverse, asigură în sistemele vii păstrarea unei stări de echilibru dinamic, a unei stări staționare, *steady state*, indispensabilă vieții.

— Sistemele vii sînt compatibile cu oscilații mai mari sau mai mici privind parametrii sistemului atunci cînd un factor perturbant, un factor de dezordine, le scoate din echilibrul lor.

— Constantele biologice ale sistemelor vii reprezintă, de fapt, limitele de variație în care se încadrează posibilitățile de oscilație ale parametrilor homeostaziei.

— Mecanismele reglatorii, proprii sistemelor vii, endogene deci, funcționează pe principiul retroacțiunii și sînt cu atît mai ample ca potențial cu cît cîmpul de variație al sistemului este mai larg. Înseamnă că sistemele biologice pot asimila medii noi de viață, factori neprevăzuți, pot contracara acțiunea injuriilor în măsura în care oscilațiile produse de acestea nu depășesc cîmpul de variație al sistemului, amplitudinea lor putînd fi redusă continuu, încadrîndu-se în vechiul *steady state* al sistemului.

— Posibilitățile de adaptare a unui sistem biologic sînt limitate, în sensul asimilării unor factori „probabili" din mediu, de către eficiența mecanismelor de reglare.

— Integralitatea sistemelor biologice, privită ca efectul interacțiunii subsistemelor componente, generează la nivelul subsistemului proprietăți noi, expresia unui conținut informațional nou, mai bogat și mai complex.

— Integralitatea sistemelor biologice în sensul menționat sporește pe măsura creșterii complexității de organizare a sistemului.

— Creșterea complexității structurale și funcționale a sistemelor biologice asigură funcționarea unor canale de legătură mai numeroase și mai eficiente privind transportul de informație, comandă, ordine și efect antientropic intersubsistemic și chiar între sistem și mediu.

— Sistemele de înaltă integralitate dețin, pe lîngă o pluralitate uimitoare de structuri, diferențieri, forme de organizare, excelente mecanisme de autoreglare. Ele se caracterizează prin ordine, economie și randament sporit în funcționare, prin conținut informațional bogat și entropie scăzută.

— Subsistemele componente ale unui sistem biologic sînt subordonate sistemului superior, îmbogățesc conținutul informațional al acestuia, dar poartă totodată amprenta naturii și a „scopului" sistemului superior.

— Sistemele biologice sînt ierarhizate în ceea ce privește integralitatea lor, în ceea ce privește posibilitatea stării sistemelor în sensul conținutului lor de programe. Fiecare subsistem își are posibilitățile de schimbare a programului său, program coordonat de posibilitățile de schimbare a sistemului superior, al cărui program este, la rîndul lui, dependent de programele subsistemelor dependente.

— Subsistemele componente ale unui sistem lucrează întotdeauna sub posibilitățile lor reale, existînd o rezervă funcțională — potențială — neutilizată. Cauza acestui fenomen rezidă în caracterul redundant al sistemelor biologice.

Scanned with OKEN Scanner

— Organismele pluricelulare reprezintă o ierarhie de subsisteme interrelate, ierarhia fiind de ordin morfologic și funcțional. Această ierarhie intersubsistemică din cadrul organismului generează o stare de dependență a unui subsistem față de celălalt, în consecință de integralitate cu atît mai evidentă cu cît gradul de diferențiere și de specializare a părților, a subsistemelor este mai avansat.

— Sistemele vii sînt sisteme neliniare, în care variația unui element al unui subsistem nu duce la variația proporțională a tuturor subsistemelor cu care acesta este interconectat.

— Sistemele biologice superior organizate reprezintă unități biologice cu un înalt grad de integralitate, dar în același timp fiecare subsistem component are un anumit grad de autonomie, mecanisme proprii de lucru și însușiri concrete de întreg, de sistem integrant.

Pornind de la aceste coordonate ale sistemelor biologice, regenerarea poate fi definită ca proprietatea de restituție a părților ablate ale sistemelor deschise vii. Regenerarea este rezultatul interrelațiilor care se stabilesc în cadrul unui sistem viu între subsistemele sale componente, interacțiuni ce conferă întregului posibilitatea morfogenezei unor subsisteme componente ablate total sau parțial.

Cu alte cuvinte, componentele sistemului pot fi create de însuși sistemul respectiv sub influența lui morfogenetică, ceea ce este valabil atît pentru morfogeneza normală, cît și pentru morfogeneza regenerativă. În ambele cazuri intră în joc o serie de factori, forțe motrice ale creșterii, ale înmulțirii celulare și ale diferențierii. Aceste forțe motrice ale dezvoltării privesc, în cazul morfogenezei embrionare, doar interrelațiile care se stabilesc între un material predeterminat și factorii interni sau externi.

Înseamnă că unele forțe motrice izvorăsc din interrelațiile interne, iar altele din interrelațiile externe ale sistemului în dezvoltare, acestea din urmă în raport cu acțiunea mediului înconjurător.

În citoplasma oului fecundat există o serie de teritorii diferite ca potențialități, teritorii caracterizate printr-o anumită distribuție organizată a moleculelor proteice. Aceste teritorii se repartizează, se distribuie prin segmentare, păstrînd însă între ele anumite interrelații. Teritoriile citoplasmatice încep să difere de la un blastomer la altul nu numai în privința sistemelor de proteine pe care le cuprind, dar și datorită relațiilor de retroacțiune pe care le stabilește citoplasma cu nucleul. Proteinele citoplasmatice retroacționează, la rîndul lor, asupra informației ereditare păstrate în nucleu, permit activitatea unor zone din ADN; cu alte cuvinte, ele realizează un anumit program genetic sau, dimpotrivă, inhibă realizarea altor programe, menținînd inactive (blocate) alte sectoare din sulul de ADN. Înseamnă că, grație retroacțiunii însăși, sinteza proteinelor va fi modificată în conformitate cu natura proteinelor preexistente. Deci, într-un blastomer proteinele preexistente devin decisive pentru o exprimare fenotipică a informației ereditare.

Transformarea oului, prin segmentare, într-un embrion multicelular pune în joc alte forțe motrice, care se bazează pe interrelațiile ce se stabilesc între celulele embrionare constitutive. Fenomenul de „reagregare" a suspensiilor de celule embrionare, fenomen bazat pe forțe de atracție și de respingere, atestă cu prisosință existența interrelațiilor între celulele embrionare.

Disocierea organelor embrionare, avansate ca stadiu ontogenetic (gonade, rinichi, ficat), cultivarea lor *in vitro* și reagregarea într-o structură specifică

Scanned with OKEN Scanner

constituie proba elocventă a interrelațiilor — a forțelor de atracție și de respingere — care regizează, în mare, măsura morfogenezei normale.

Fenomenul de reglare are la bază un anumit gen de interrelații între blastomere. În morfogeneza normală, „destinația" unui blastomer depinde nu numai de potențialitățile sale interioare dictate genetic, dar și de influența celorlalte blastomere din sistemul în dezvoltare. Aceste interrelații exterioare limitează potențialitățile „ultralargi" ale blastomerului. În scopul asigurării unei ordini, al îndepărtării stărilor „probabile", ele limitează potențialitățile multiple ale blastomerelor la cîteva realizări necesare.

În urma întreruperii acestor interrelații, pe care le numim „negative", blastomerele izolate se eliberează de sub influența inhibitorie a blastomerelor vecine, se dovedesc echivalente ca potențialități, actualizează potențele lor intrinsece, pe care le-am numit „ultralargi", și sînt în măsură să genereze, pe cont propriu, un organism normal.

Odată cu evoluția ontogenetică se impun, pe primul plan, interrelațiile interblastomerice, care reduc în mod ireversibil potențialul intrinsec al fiecărui blastomer în parte. Un asemenea blastomer, scos din ansamblul sistemului, se menține în viață prin forțe proprii un timp limitat, atît cît nu se simte nevoia interacțiunii sale cu celelalte blastomere.

Teoria sistemelor demonstrează că, în cursul dezvoltării ontogenetice, are loc o creștere a stării de dependență a părților sistemului în dezvoltare. Într-adevăr, capacitatea de reglare, veritabilă măsură a gradului de integralitate, scade în cursul dezvoltării embrionare, la un moment dat fiind chiar suspendată. Atîta timp cît reglarea este prezentă, fiecare parte din sistem, fiecare blastomer este posesorul întregului conținut informațional al individului, dispunînd, din punct de vedere filozofic, de „libertăți" a căror anvergură este dictată de coordonatele speciei.

Capacitatea de reglare este apanajul primelor stadii de dezvoltare ontogenetică, prezentă deopotrivă la amfibii, la păsări și la mamifere, precum și la majoritatea nevertebratelor, constituind o frumoasă verificare a relațiilor istorice dintre ontogeneză și filogeneză.

În momentul în care reglarea se anulează, fiecare parte a sistemului în dezvoltare își limitează conținutul informațional, își reduce din „libertăți" și reține numai ceea ce este necesar construcției unei arhitecturi armonioase, atît din punct de vedere morfologic, cît și funcțional.

Părțile devin diferențiate, dependente unele de altele, stabilind între ele legături cantitative și calitative. Conținutul informațional redus al părților componente ale sistemului se sumează; suma lor conduce la formarea unui plus informațional. Părțile devin subordonate întregului. Programele subsistemelor componente devin subordonate și coordonate de către programul sistemului integrant.

În acel moment intră în joc relații de altă natură, între primordiile de organe în dezvoltare, între sistemul nervos și organismul în dezvoltare, între diferitele regiuni ale corpului deosebite între ele ca valoare gradientică. În funcție de aceste interrelații, regenerarea la embrioni îmbracă alte aspecte decît cele de la adult.

Primordiile de organe, privite ca subsisteme ale unui sistem superior integrator, au potențialități limitate din punct de vedere regenerativ.

În pofida conținutului informațional bogat al întregului, a capacității sale de reglare, a multiplelor canale de legătură care se stabilesc intersubsistemic,

Scanned with OKEN Scanner

un primordiu de organ total extirpat nu poate fi refăcut nici de către primordiile vecine, subsisteme în directă conexiune cu primordiul de organ îndepărtat, și nici de către sistemul întreg, prin eforturile coroborate ale tuturor subsistemelor componente.

În schimb, exereza subtotală a unui primordiu de organ actualizează potențele morfogenetice ale subsistemului respectiv, care recuperează, prin regenerare, deficitul de biomasă. În acest caz, regenerarea nu reprezintă numai efectul acțiunii locale a subsistemului afectat, ci însuși efectul participării întregului sistem integrant, sistem care, la acțiunea injuriei, conferă subsistemului lezat potențialitatea neprevăzută în programul său, dar necesară supraviețuirii: proprietatea de regenerare.

Lipsa capacității de regenerare embrionară la unele grupe sistematice, ai căror reprezentanți adulți regenerează cu multă ușurință, se explică în primul rînd prin faptul că sistemul nervos nu a atins diferențierea necesară pentru a antrena întregul organism la actualizarea potențialității de restituție la nivelul organului afectat.

Capacitatea regenerativă crescută a larvelor de urodele față de adulții lor are explicația în faptul că suprafețele de amputare sînt mult mai bogat inervate decît zonele corespunzătoare de la adult. Se formează astfel mult mai ușor un bloc simplu de transmitere a informației, în care organul receptor este constituit din primordiul lezat, fibrele nervoase formînd un canal masiv de transmitere a informației, care, prelucrată imediat, local, actualizează la nivelul locului de adresă a injuriei capacitatea de restituție.

Lipsa capacității regenerative la embrionii prea tineri se explică și prin lipsa unui anumit grad de diferențiere a țesuturilor, ceea ce duce la absența fenomenelor de inducție necesare nu numai morfogenezei normale, ci și morfogenezei regenerative.

Înseamnă că, pentru a actualiza capacitatea de restituție într-un anumit punct al organismului, este imperios necesar un anumit grad de individualizare a unor subsisteme subordonate, care, stabilind un gen de interrelații, să permită refacerea prin inducție morfogenetică regenerativă a organului lezat.

În unele cazuri, la insecte și anure, capacitatea regenerativă sporită a larvelor, în comparație cu cea aproape nulă a adulților, se explică prin faptul că primordiile organelor regenerative au reținut din programul informațional al etapelor ontogenetice anterioare anumite potențialități, anumite „libertăți", pe care, în acțiunea lui de subordonare, sistemul integrativ nu le-a anulat încă.

Astfel interpretate, capacitatea regenerativă a larvelor de anure și pierderea acestei proprietăți la adult sînt perfect explicabile.

O problemă cu totul aparte, deosebit de interesantă din punct de vedere teoretic, este cea a posibilității cultivării *in vitro* a explantelor de organe embrionare.

Este adevărat că subsistemele componente ale unui sistem integral nu pot fi studiate decît în ansamblul interrelațiilor cu celelalte subsisteme. Numai în aceste condiții subsistemele cîștigă noi proprietăți, conferite de structura înțeleasă ca modul de îmbinare și de interdependență a părților cu întregul.

Totuși, cultura de organe embrionare *in vitro* este foarte potrivită pentru a studia potențialitățile morfogenetice ale unui subsistem, în ce măsură aceste potențialități sînt intrinsece, proprii lui, și în ce măsură sînt conferite de structură.

Scanned with OKEN Scanner

Posibilitatea cultivării *in vitro* a numeroase primordii de organe embrionare confirmă nu numai potența lor de creștere organotipică, ci însăși capacitatea de diferențiere. Înseamnă că un subsistem deconectat din rețeaua de relee normale posedă potențialități de dezvoltare interioare. Îmbogățirea acestor potențialități pe calea canalelor de legătură cu celelalte elemente ale structurii este posibilă numai *in situ*. Acest flux de informație nu are loc *in vitro*, astfel încît însăși viața explantului și posibilitățile lui de supraviețuire în timp sînt limitate. Întrucît plusul de informație înseamnă acțiune antientropică, rezultă că sporirea ordinii, îndepărtarea de starea probabilă, deranjamentele la nivel biochimic în explantele cultivate pot fi interpretate ca o expresie a dezordinii, a creșterii entropiei, a epuizării programului propriu („pentru sine"), program care pînă la un anumit moment a asigurat nu numai autoconservarea sistemului, ci însăși diferențierea acestuia.

Programele celorlalte subsisteme interconectate în rețeaua de relee din organism, ca și programul sistemului superior integrant, sînt necesare deci tocmai prin fluxul de informație pe care-l dau, flux ce asigură supraviețuirea sistemului dat, creșterea și diferențierea acestuia, precum și contribuția lui, prin programul propriu, la programul coordonator al întregului.

Cultivarea *in vitro* a organelor embrionare aduce în discuție interrelația dintre sistemul în dezvoltare și condițiile mediului înconjurător ca forță motrice a dezvoltării.

Este adevărat că, în decursul dezvoltării filogenetice, oul ca sistem morfogenetic de cea mai mare potențialitate a devenit tot mai autonom, pe măsura creșterii rezervelor lui nutritive, s-a izolat tot mai mult și a impus pe primul plan interrelațiile sale interioare, lăsînd pe plan secundar legăturile exterioare cu mediul. Această autonomie nu trebuie însă înțeleasă ca o „închidere". Mediul înconjurător, fără să aibă posibilități de a schimba esența programelor sistemului în dezvoltare, poate totuși determina dereglarea acestora sau transformarea în realități a potențialităților sistemului. Cultivarea *in vitro* a organelor embrionare atestă cu prisosință acest fapt. Numai în condițiile unui mediu de o anumită calitate poate fi realizat programul „pentru sine" al subsistemului explantat.

Rezultă că, într-un subsistem embrionar în dezvoltare, programul, structura sau posibilitățile lui de modificare depind de elementele sale, de subsistemele constitutive. La rîndul lor, subsistemele componente ale unei structuri în evoluție sînt dependente de însuși sistemul integrant, de structură.

În fine, subsistemele componente se bucură de o autonomie cu atît mai evidentă cu cît programul informațional este mai bogat. Autonomia sistemului integrant, a structurii, este și ea cu atît mai exprimată cu cît posibilitățile de izolare față de mediul înconjurător, prilejuite de un bogat program propriu, sînt mai largi.

În decursul etapei embrionare din evoluția ontogenetică a unui individ se formează, prin „celularizare", o serie de linii, ale căror potențialități morfogenetice, inițial „ultralargi", se reduc progresiv. Astfel, din suma de potențialități pe care le deținea oul ca sistem morfogenetic unic (cu potențialități totale), segmentarea duce în final la distribuirea pe subsisteme a acestor potențialități în așa fel, încît toate subsistemele la un loc concură la actualizarea potențialităților genetice înscrise în celula-ou.

Pornind de la un sistem prin excelență simplu, celula-ou, s-a ajuns, printr-o serie de procese de determinare morfogenetică, la noi sisteme morfoge-

Scanned with OKEN Scanner

netice cu potențialități din ce în ce mai reduse. Paralel cu creșterea gradului de complexitate în organizarea acestor subsisteme, ele devin tot mai autonome, diferite unul de celălalt, avînd o structură proprie și potențialități morfogenetice limitate. Această individualizare a subsistemelor este un proces care se efectuează în mod succesiv, în stadii.

Din punctul de vedere al teoriei sistemelor, nu este lipsită de interes întrebarea dacă subsistemele individualizate prin celularizare obțin numai ceea ce este înscris genetic în celula-ou sau dacă corelația intersubsistemică este în măsură să realizeze noi proprietăți, care depășesc informația genetică?

Considerăm că, cel puțin pentru etapa dezvoltării embrionare, regenerarea este tocmai expresia unei calități în plus pe care o are sistemul viu în dezvoltare, grație multiplelor corelații care se stabilesc intrasubsistemic și intersubsistemic. Deci, capacitatea de regenerare la nivelul stadiului embrionar nu are numai o determinare genetică, ci este o calitate nouă, generată de legăturile interioare ale sistemului.

În ultimă instanță, la baza regenerării embrionare stau fenomene de inducție, puse în joc de elementele subsistemice restante și nelezate, precum și de elementele subsistemului lezat, care stîrnesc, la nivelul proximității spațiale a leziunii, formarea de proteine organoformatoare, specifice organului lezat și care repară defectul și refac integritatea structurală și funcțională a subsistemului.

Organismul embrionar ca sistem biologic se caracterizează printr-o succesiune ordonată a desfășurării etapelor de creștere și de diferențiere. Această proprietate caracterizează și morfogeneza regenerativă din stadiul embrionar.

Orientarea corectă a regeneratului față de subsistemul pe care-l întregește, față de celelalte subsisteme ale sistemului integrant este o problemă de polaritate, respectată atît în cazurile de regenerare embrionară, cît și în cazurile de embriogeneză normală.

Subsistemele individualizate în cursul dezvoltării embrionare reprezintă teritorii de o anumită întindere, în care, în funcție de valorile gradientice ale metabolismului, se individualizează anumite axe de polaritate, care devin decisive în orientarea regeneratului. Înseamnă că în fiecare subsistem, datorită valorilor gradientice diferite, se inițiază complexe de legături intrasubsistemice, decisive în regenerarea subsistemului respectiv.

Sistemele morfogenetice la adult

Regenerarea ridică, din acest punct de vedere, două probleme: în primul rînd, care sînt potențialitățile, perspectivele biologice ale subsistemului eliminat din întreg și, în al doilea rînd, în ce măsură întregul este afectat prin privarea de un anumit component al său?

Pornind de la ideea că între ansamblul sistemului și subsistemele sale componente legătura este dialectică, partea eliminată din sistem pierde, în absența acțiunii exercitate asupra ei de ansamblul organismului, tocmai acele calități care-i sînt conferite de întreg.

Experiența proprie ne oprește să împărtășim părerea, foarte frecvent adoptată în literatura biologico-filozofică, după care partea extrasă din sistem intră într-un proces de descompunere chimico-morfologică și moare. De fapt,

Scanned with OKEN Scanner

partea eliminată reprezintă ea însăși un sistem sau o parte dintr-un sistem. Astfel, această parte se păstrează grație corelațiilor sale interioare, intrasubsistemice. În asemenea circumstanțe însă, devin decisive corelațiile exterioare stabilite între partea desprinsă din întreg și mediu. Lăsînd la o parte posibilitatea conservării țesuturilor și a organelor extrase din sistemul viu, subliniem, pe baza experienței noastre, că în anumite condiții de cultură partea desprinsă din întreg își sporește chiar, organospecific, biomasa. Bineînțeles, viața unui asemenea sistem, devenit *ad hoc* independent, depinde, în primul rînd, de relațiile pe care sistemul le stabilește cu mediul. Dar acest mediu, oricît de favorabil ar fi, este departe de complexitatea necesară ansamblului integral. Rezultă deci că într-un mediu integral părțile sînt atît de puternic subordonate întregului, încît propria lor integritate se manifestă numai în condițiile subordonării. În ciuda acestei subordonări, care privește și programul subsistemului, ultimul își valorifică propriul său program în circumstanțele de izolare.

Se pune problema consecinței eliminării unui subsistem din ansamblul integral în ceea ce privește posibilitățile care mai rămîn celui din urmă. Or, aceste posibilități sînt multiple, fie că întregul reface, fie că nu reface partea pierdută, pierderea neafectînd calitatea viului.

Se poate întîmpla însă ca pierderea unui anumit subsistem să modifice calitatea sistemului integral, fie în limitele compatibile desfășurării fenomenelor vitale, fie în afara lor, caz în care sistemul viu își pierde calitatea. De aceea, se ridică problema care sînt subsistemele componente ale organismului a căror eliminare nu afectează totuși posibilitatea sistemului integral de a le reface.

Infuzorii, a căror structură complexă ne permite să îi numim supracelule, regenerează orice parte a corpului exclusiv macronucleul și citostomul, două elemente a căror integritate este obligatorie pentru ca defectul consecutiv traumatismului să se repare.

Spongierii își pot repara defectele provocate de injuriile accidentale, celenteratele își pot regenera tentaculele, viermii își regenerează extremitatea caudală sau cefalică, asteridele își refac brațele, vertebratele inferioare extremitățile, iar vertebratele superioare își regenerează organele interne.

Fără să intrăm în detalii privind enumerarea acelor părți ale organismului care pot fi regenerate, pentru a trage anumite concluzii este necesar să privim evoluția lumii vii prin prisma integralității sistemelor.

În cursul evoluției și al specializării diferitelor grupe de metazoare, are loc descreșterea gradată a numărului organelor homologe, ceea ce duce la intensificarea funcțiilor și la dezvoltarea organelor plurifuncționale. Paralel cu concentrarea organelor și cu oligomerizarea părților componente ale unui organism integral, se constată dezvoltarea integralității și creșterea gradului de subordonare a părților sistemului integrant. Organismele cu nivel ridicat de integralitate nu posedă organe care să aibă o singură funcție, toate organele fiind plurifuncționale; organismul reprezintă un sistem integral, cuprinzînd subsisteme plurifuncționale.

Această creștere a gradului integralității sistemelor vii are în cursul evoluției o serie de caracteristici, și anume:

— Subsistemele componente își pierd autonomia pe măsura creșterii gradului de integralitate, stabilind prin căi multiple corelații intersubsistemice în cadrul sistemului integral.

Scanned with OKEN Scanner

— Celulele, ca elemente structurale de bază, intră în compoziția unui anumit sistem (în sens cibernetic), în compoziția unei anumite unități funcționale, în arhitectura unui anumit organ sau aparat. Această delimitare riguroasă a părților componente ale unui sistem integral este cu atît mai pronunțată cu cît gradul de integralitate al sistemului este mai evoluat.

— Sistemul umoral și sistemul nervos, ca mediatori ai corelațiilor intersubsistemice, cîștigă un grad de complexitate organizatorică și eficiență funcțională cu atît mai mare cu cît integralitatea sistemului viu este mai puternică.

— Subsistemele componente ale unui sistem integrant cu o integralitate exprimată au, la rîndul lor, legături intrasubsistemice cu atît mai complexe cu cît structura subsistemului respectiv, integralitatea lui, este mai evoluată. Asemenea subsisteme izolate din sistemul integrant prezintă capacitatea de a se menține în viață în condiții adecvate de mediu.

— Cu cît sistemul viu este mai complex, cu cît posedă o integralitate mai pregnantă, cu atît se poate lipsi mai ușor de unele din componentele sale fără ca sistemul să înceteze să fie el însuși. Înlăturarea unui subsistem dintr-un asemenea organism nu conduce, în mod obligatoriu, la desființarea sistemului. Deci, sistemele vii cu înaltă integralitate își pot repara sau compensa defectele. Aceste sisteme posedă mecanisme de reglare a homeostaziei lor, în ciuda acțiunii haotice și dezorganizatoare a mediului. Integralitatea sistemelor vii conferă acestora un anumit grad de autonomie față de mediu, grad cu atît mai pronunțat cu cît însăși integralitatea este mai puternică.

Fenomenul regenerativ, privit prin prisma acestor coordonate, cîștigă o semnificație aparte, ceea ce este evident îndeosebi la nevertebrate. Astfel, capacitatea de regenerare reparatorie este maximă la viermi, fiind corelată cu un anumit grad de complexitate de structură, cu un anumit nivel al dezvoltării sistemului nervos, releu continuu de interrelație, și cu o anumită abundență de neoblaste, celule mobile care fac serviciul de releu mobil ce leagă întreg organismul de nivelul de acțiune al injuriei.

În ciuda creșterii gradului de complexitate structurală față de celenterate, viermii păstrează totuși o constituție relativ simplă, legată de prevalența unor sisteme „homonome" ca structură și ca funcție. Această homonomie nu permite decît regionalizarea morfologică a corpului lor, și nu individualizarea părților.

Organismele mai simplu organizate decît viermii prezintă, datorită gradului lor redus de integralitate, legat de existența unor slabe corelații între celulele sistem „homonome", o capacitate de embriogeneză somatică, bazată pe posibilitatea negării absolute a corelațiilor intercelulare. Aceste organisme, deși capabile de regenerare, răspund la acțiunea factorilor de injurie, în primul rînd prin embriogeneză somatică.

Infuzorii prezintă astfel evidente fenomene de regenerare. Structura celulei, care reprezintă însuși organismul, are o complexitate morfofuncțională uimitoare și un nivel de integralitate corespunzător.

Odată cu depășirea nivelului de complexitate structurală a viermilor și a echinodermelor, odată cu divizarea reală a corpului în părți realmente subordonate întregului, capacitatea de regenerare scade evident sau se anulează total. Vieţuitoarele cele mai primitive prezintă cea mai ridicată capacitate de reproducere asexuată și de embriogeneză somatică. Scăderea capacității de embriogeneză somatică marchează creșterea atît a gradului de complexitate

Scanned with OKEN Scanner

structurală în organizarea viețuitoarelor, cît și a gradului de integralitate, ceea ce este valabil nu numai în perspectiva filogeniei viețuitoarelor, dar chiar privind același grup sistematic.

Astfel, în grupul vertebratelor apare evidentă creșterea gradului de complexitate în organizare și a nivelului de integralitate. Pe măsura intrării în funcțiune a unor mecanisme integratoare de ordin nervos și umoral, mecanisme care determină realizarea unui întreg armonic, părțile sînt vizibil subordonate, prin ele asigurîndu-se existența sistemului integral.

Este evident că peștii prezintă, ca morfologie exterioară, o regionalizare a corpului, ceea ce se observă limpede și la amfibii, unde extremitățile apar însă ca „sisteme-părți" distincte. La urodele, ca și la reptile, coada apare sub forma unei regiuni caudale. Păsările și mamiferele au corpul împărțit, în mod vizibil, în sisteme-părți.

Cert este că la nici un vertebrat nici una dintre părțile corpului nu poate regenera un organism întreg. Acest fapt este determinat, pe de o parte, de relațiile foarte strînse intersubsistemice, care nu permit dezintegrarea sistemelor tisulare. Pe de altă parte, fiecare subsistem este atît de specializat în contribuția la realizarea unei anumite coordonate specifice din ansamblul sistemului integral, încît potențialitățile lui sînt foarte departe de totipotența sistemului-ou.

Deci, la vertebrate, fenomenele de embriogeneză somatică și de reproducere asexuată au dispărut, astfel încît intră în discuție doar fenomenul de adevărată regenerare.

Vertebratele (peștii, amfibiile și reptilele) posedă capacitatea de regenerare a extremităților grație individualizării acestor extremități ca adevărate sisteme morfogenetice. Aceste sisteme se comportă, din punct de vedere regenerativ, ca veritabile sisteme izolate, automate, capabile de a regenera extremitatea care le este corespunzătoare, dar incapabile de a regenera alte părți ale sistemului integral.

Sistemele morfogenetice alcătuiesc subsisteme ale sistemului integral (organismul), dar în același timp un sistem morfogenetic este format dintr-un ansamblu de părți, de sisteme tisulare mai mult sau mai puțin heterogene. Cele din urmă sînt, din punctul de vedere al creșterii și al diferențierii lor, sub dependența propriilor legături, a propriilor interrelații, dar totodată subordonate sistemului integral. Această subordonare implică o anumită interrelație între sistemul integral și subsistemele sale „părți". Interrelația incontestabilă dintre organism ca sistem integral și subsistemele morfogenetice nu exclude însă un anumit grad de independență, de autonomie a acestora din urmă.

În orice caz, legătura dintre sistemele tisulare ale unui sistem morfogenetic este mult mai strînsă decît legătura dintre sistemul morfogenetic și părțile exterioare lui. Într-adevăr, părțile unui sistem morfogenetic sînt capabile de a se regenera una pe alta, dar incapabile de a regenera părțile exterioare sistemului. Potențialitățile sistemelor morfogenetice ale organismului adult sînt restrînse, sînt limitate la refacerea, în caz de nevoie, a extremităților corespunzătoare.

Privit în ansamblu, organismul integral, cu o structură complexă, este subdivizat în subsisteme autonome, cu o structură morfologică bine determinată, subsistemele fiind diferite între ele prin potențialitățile lor morfogenetice și mai puțin diferite prin natura componentelor tisulare. Acest fapt

Scanned with OKEN Scanner

aduce în discuție rolul legăturilor interioare, legături care se stabilesc între sistemele tisulare ale unui sistem morfogenetic, pe de o parte, și între sistemul morfogenetic și sistemul integral, pe de altă parte.

Este incontestabil că natura sistemelor tisulare care alcătuiesc coada sau membrele tritonului este foarte asemănătoare. Totuși, la nivelul sistemului morfogenetic „membru" nu se regenerează o coadă. Înseamnă că natura interrelațiilor stabilite între elementele componente ale unui sistem morfogenetic decide potențialitatea sistemului respectiv. Folosind același material de construcție, aceleași sisteme tisulare, un alt sistem morfogenetic are potențialități diferite.

Considerăm că specificitatea sistemelor morfogenetice la adult este determinată de natura legăturilor dintre sistemele tisulare. Aceste legături sînt, în mod normal, stabile și fixe. La rîndul lor, sistemele tisulare își au potențialitățile lor histogenetice identice pentru toate sistemele morfogenetice din care fac parte. Specificitatea funcționării lor în ansamblul sistemului morfogenetic depinde de legăturile pe care le stabilesc între ele aceste sisteme tisulare. Scoase din ansamblul acestor interrelații, sistemele tisulare, indiferent de originea lor privind apartenența la un anumit sistem morfogenetic, se comportă la fel, iar *in vitro* proliferează histiotipic. Experiența personală ne conduce la concluzia că, în cazul în care ablația privește o parte dintr-un sistem morfogenetic cu o anumită situație fiziologică, modificările induse *in vivo* de starea respectivă se continuă și *in vitro* în același sens.

Este cert că interrelațiile din cadrul unui sistem morfogenetic decid diferențierea histologică și activitatea de creștere și de diferențiere din cursul regenerării. Nu mai puțin adevărat este că aceste interrelații conferă sistemelor morfogenetice la adult potențialități parțiale. Astfel, una din caracteristicile fundamentale ale sistemelor morfogenetice la adult este specificitatea lor față de sistemele analoge, deci destinația de organ pe care-l pot diferenția.

Blastemul regenerativ este un material nediferențiat, pe seama căruia se refac extremitățile amputate la urodele. Se pune deci problema factorului care decide destinația de organ a regeneratului.

Regenerarea unui membru anterior la nivelul unei cozi amputate ar fi nemotivată din punct de vedere biologic, dar în același timp ar constitui un semn de dezordine în sistemul integral, care, în ciuda autonomiei subsistemelor sale „părți", subordonează și controlează activitatea acestora.

Primele impulsuri în creșterea și în diferențierea regeneratului aparțin întregului. Pe calea releelor integratoare, a legăturilor dintre părți, întregul comandă, în măsura necesităților sale, actualizarea potențialităților sistemelor morfogenetice și astfel regenerarea părților pierdute. Odată ce primele diferențieri tisulare au loc, devin decisive interrelațiile care se stabilesc între diferitele sisteme histogenetice ale aceluiași sistem morfogenetic, corelații care decid prin ele însele natura regeneratului.

Transplantarea unui blastem nediferențiat, care n-a primit încă comanda informațională din partea întregului, în zona unui alt sistem morfogenetic primește o comandă corespunzătoare sistemului respectiv și își modifică destinația de organ. Cauza acestei inversiuni este, în primul rînd, comanda informațională dată de sistemul integral, urmată de corelații, cu totul de altă natură, stabilite între primele sisteme tisulare care se diferențiază.

Scanned with OKEN Scanner

În cazul cînd transplantarea privește un blastem care a recepționat din partea întregului primele comenzi în vederea creșterii și a diferențierii organului amputat, regenerarea are loc conform destinației de organ. În acest caz, creșterea și diferențierea regeneratului se fac pe seama corelațiilor interioare dintre sistemele tisulare componente.

Acest punct de vedere este certificat, pe de altă parte, de experiențele de transplantare a blastemelor tinere de membru în cavitatea generală a corpului sau în veziculele cerebrale. Aceste modele experimentale neagă nu numai corelațiile normale de ordin topografic dintre subsistemele unui organism, ci însești corelațiile normale dintre blastemul regenerativ și mediul exterior, precum și imposibilitatea oricărei influențe a funcției „actuale" a regeneratului. Totuși, este posibilă dezvoltarea unui membru normal ce „provine din cap" în cazul în care blastemul regenerativ a primit deja impulsurile-comandă privind destinația lui de organ. Blastemele prea tinere care nu au primit din partea întregului comanda în vederea primelor diferențieri, transplantate într-o regiune indiferentă a corpului, se dezvoltă, în lipsa oricărui „control-comandă", în mod anarhic, generînd tumori.

Din aceste date rezultă că, în desfășurarea fenomenului regenerativ, succesiunea evenimentelor în timp este legată de un impuls-comandă venit de la nivelul întregului, impuls urmat de corelații interioare stabilite între sistemele tisulare diferențiate. Cu alte cuvinte, autonomia sistemelor morfogenetice este derivată și subordonată sistemului integral.

Sistemele morfogenetice și corelația lor cu întregul

Deși integralitatea organismului, în sensul participării tuturor părților sale la desfășurarea proceselor vitale, este cea mai favorabilă circumstanță evolutivă, totuși în decursul evoluției factorul trofic neuronal nu sporește cantitativ, deci nu are loc potențarea refacerii extremităților pierdute. Dimpotrivă, capacitatea trofică a neuronilor diminuează paralel cu elaborarea unor mecanisme nervoase integratoare mai eficiente. Acest declin în funcția trofică a sistemului nervos este cauzat de scăderea inervației periferice și, în parte, de limitarea diametrului fibrelor nervoase. Mamiferele au mai puține fibre nervoase pe unitatea de volum de membru decît tritonul. Deși saturația cu fibre nervoase a membrelor mamiferelor este mai mică, membrele mamiferelor reprezintă un organ mult mai efectiv din punctul de vedere al motilității.

Comparativ cu urodelele, la vertebratele superioare rolul trofic al sistemului nervos periferic a scăzut considerabil. Capacitatea sistemului nervos de a potența fenomenele de creștere scade de asemenea, ceea ce constituie una din cauzele absenței regenerării extremităților la vertebratele superioare.

Scăderea rolului trofic al sistemului nervos periferic este însă paralelă cu creșterea eficienței mecanismelor integratoare puse în joc de către sistemul nervos central.

În mediul acvatic, uniform, al peștilor, saturația periferiei cu fibre nervoase este mai avantajoasă nu numai pentru că permite o capacitate senzorială maximă, ci și pe considerentul că satisface necesitățile trofice în vederea menținerii și a regenerării țesuturilor periferice.

La anure se observă o evidentă scădere a numărului fibrelor nervoase pe unitatea de volum, o scădere a saturației periferice, dar în același timp

Scanned with OKEN Scanner

acțiunea integratoare a sistemului nervos central crește. Odată cu cîștigarea unei eficiențe mai mari în rolul lor funcțional, membrele își pierd capacitatea de regenerare.

Este adevărat că, paralel cu scăderea numerică a fibrelor nervoase periferice, are loc creșterea diametrului axonilor, ceea ce conduce la augmentarea fluxului trofic și deci la creșterea eficienței acestuia. Cu toate acestea, la *Rana*, deși diametrul axonilor este mai mare decît la urodele, scăderea numerică a fibrelor nervoase pe unitatea de volum nu este compensată. Regenerarea extremităților apare sub forma unor semne abortive, cauza fiind insuficiența factorului trofic neuronal.

La formele superioare amfibiilor, fibrele nervoase periferice sînt reduse ca număr și de calibru mic. Factorul trofic este insuficient pentru a permite fenomene de creștere de intensitatea celor necesare în regenerare.

Deși în decursul evoluției este evidentă descreșterea activității trofice a sistemului nervos, totuși capacitatea regenerativă a subsistemelor corporale nu este complet pierdută. Într-adevăr, funcția trofică a neuronilor nu dispare, ci rămîne o funcție primară pentru procesele neuronale și o condiție *sine qua non* pentru creștere. Factorul trofic în exces ar fi salutar pentru regenerarea extremităților, dar totodată ar fi în defavoarea elaborării altor mecanisme integratoare ale sistemului nervos.

În cursul evoluției, excesul de factor trofic este mereu redus, la un moment dat acest factor fiind insuficient pentru a evoca regenerarea extremităților amputate. Totuși, cantitatea de factor trofic existent la nivelul extremităților formelor superioare ale vertebratelor este suficientă pentru a asigura regenerarea sistemelor tisulare componente. Această regenerare fiziologică este ubicuitară (la toate vertebratele, inclusiv la om), fiind condiționată de factorul trofic neuronal.

Pe de altă parte, nu toate țesuturile periferice răspund la incitațiile nervoase în același fel. Cu alte cuvinte, competența țesuturilor la acțiunea factorului trofic neuronal este diferită.

În decursul evoluției, țesuturile periferice devin tot mai refractare la incitațiile factorului trofic integrator, reclamîndu-l într-o cantitate sporită.

Aici apare însă un paradox. Competența regenerativă a sistemelor tisulare ale extremităților vertebratelor superioare este tot atît de mare ca și cea a urodelelor, dar cu toate acestea extremitățile vertebratelor superioare nu regenerează. Acest fapt se datorește probabil absenței unor corelații intrasubsistemice între sistemele tisulare competente, corelații decisive în dinamica procesului regenerativ. Natura acestor corelații, acolo unde ele sînt prezente, este probabil de ordin chimic. Ele ar acționa similar „inductorilor" din ontogeneza normală, condiționînd o stare de „ordine", de dependență a unui sistem tisular față de un alt sistem tisular. În lipsa acestor corelații, cum este cazul la vertebratele superioare, sistemele tisulare devin autonome, lipsind orice condiționare reciprocă ce ar putea iniția procesul de regenerare.

La rîndul ei, secreția hormonală depinde de natura țesuturilor care au înregistrat o injurie, de ereditatea sistemului viu, de natura injuriei, de faptul dacă leziunile de același fel adresate la același nivel s-au mai repetat în filogenie sau dacă ele reprezintă ceva nou.

La vertebratele superioare, calitatea hormonilor elaborați determină, la nivelul amputației unui membru, cicatrizarea leziunii, în timp ce la urodele are loc geneza unui nou membru.

Scanned with OKEN Scanner

La nevertebrate, semnalele de alarmă se propagă pe cale chimică într-un mod mult mai simplu, determinînd o reacție de sistem mult mai rudimentară, dar în același timp mult mai eficace din punctul de vedere al eficienței restituției părților pierdute.

Oricare ar fi natura reacțiilor de răspuns la acțiunea injuriei mecanice adresate organismului, nu putem nega existența unor reacții de sistem, adevărate „sindroame generale". În ce măsură aceste sindroame reprezintă sau nu reprezintă sindroame generale de adaptare rămîne de văzut. Cert este însă că, în cursul evoluției viețuitoarelor, au apărut succesiv diferite organe și sisteme endocrine care au promovat desfășurarea vieții la o treaptă tot mai evoluată. În decursul filogenezei s-au produs, totodată, schimbări în natura și în cantitatea secrețiilor hormonale. Dar nu numai atît! Filogeneza înseamnă în același timp schimbarea în receptivitatea țesuturilor față de hormoni.

Este incontestabil că hormonii reprezintă unul dintre factorii biochimici ai evoluției în general și ai evoluției regenerării în special. Diferențele înregistrate între capacitatea regenerării diferitelor viețuitoare pot fi puse, într-o oarecare măsură pe seama fiziologiei glandelor cu secreție internă.

Diferențele dintre înfățișarea și fiziologia variatelor specii animale s-ar datora, după părerea unor mari naturaliști, ca H.F. Osborn sau M. Caullery, secreției endocrine. Dacă această idee pare exagerată, nu se poate nega însă faptul că glandele endocrine sînt unele dintre principalele organe care controlează producerea de energie. Regenerarea este un fenomen ce reclamă, prin excelență, consum de energie. Dezvoltarea unui sistem endocrin complex și eficient, plastic și prompt în elaborarea răspunsurilor, a însemnat, din punctul de vedere al regenerării, extincția capacității regenerative a extremităților. Credem că, instalarea acestui fenomen este condiționată, printre altele, și de acțiunea sistemului hormonal. Astfel, sistemul hormonal este solicitat, la nivelul organismelor superioare, în acțiuni mult mai importante, mai frecvent repetate zilnic, ca producerea energiei pentru nevoile permanente ale organismului: digestia, termogeneza, fuga în fața dușmanilor etc., cărora li se adaugă necesitățile de energie reclamate în situațiile urgente în care se cere o eficiență fizică maximală. Este de importanță biologică mai mare pentru un individ să-și păstreze integritatea corporală, să se apere, să se lupte, să fugă de dușmani decît să-și refacă un membru pierdut accidental. Selecția naturală a decis între utilitatea regenerării extremităților vertebratelor superioare și utilitatea unor reacții puse în joc de către factorii hormonali, înclinînd balanța spre cei din urmă.

Regenerarea, care este, în fond, o formă pasivă de apărare în fața noxelor, a fost eliminată ca potențialitate, fiind înlocuită cu o serie de mecanisme active de apărare, care, prin intervenția sistemului hormonal, au cîștigat o precizie uimitoare. Aceste reacții active, controlate nervos și umoral, îmbogățesc un mănunchi de alte reacții puse în joc de sistemul nervos și executate de către extremități: mobilitatea, procurarea hranei, construcția adăpostului, reacții care, împreună cu primele, alcătuiesc un grup de reacții comportamentale cu coordonare neuro-umorală. Perfecționarea acestora a determinat abolirea proprietății de regenerare, pe de o parte, și creșterea gradului de integralitate a organismului, creșterea relațiilor intersubsistemice, pe de altă parte.

Scanned with OKEN Scanner

Homeostazie și regenerare

Condiția indispensabilă a existenței sistemelor ordonate, antientropice, este menținerea constantă a coordonatelor lor de structură și de funcție.

Ordinea în sistem, menținerea parametrilor sistemului în stare staționară reprezintă, de fapt, *homeostazia sistemului viu*. Constanța mediului intern al organismelor este prestabilită în aparatul ereditar, aparat ce reprezintă un centru de comandă cu atît mai stabil, cu cît periferia este mai eficientă din punct de vedere funcțional. În condițiile unei periferii ineficiente, aparatul ereditar însuși este supus la mari fluctuații, homeostazia fiind deficitară.

Gradul de homeostazie al sistemelor biologice este variabil; el reprezintă unul dintre fenomenele esențiale ale vieții. Caracterul homeostazic al organismelor decurge din însuși caracterul de sistem al oricărei structuri vii, din autonomia și funcționarea automată a acestuia.

Homeostazia se realizează fie prin mijloace pasive de izolare a sistemului viu de condițiile, mai mult sau mai puțin haotice, ale mediului, prin mecanisme de secluziune, fie, în mod activ, prin reglarea parametrilor interni ai sistemelor vii.

În decursul evoluției filogenetice, homeostazia devine din ce în ce mai perfectă, autonomia organismului față de mediu crește, funcțiile reglatorii ale sistemelor vii aduc, din ce în ce mai prompt și mai perfect, parametrii modificați ai sistemului la nivelul normei.

Agenții externi nu numai că pot provoca, la nivelul sistemelor vii, modificări care privesc protoplasma sistemelor, dar pot reprezenta chiar factori de agresiune la adresa integralității morfologice a organismelor. Pierderea unei extremități, a unui organ senzorial sau a unui fragment corporal mai mult sau mai puțin extins este un fenomen destul de frecvent în natură. La organismele superioare, euribionte de tip superior (păsări și mamifere), legăturile haotice, difuze, stabilite între organism și mediu se reduc, datorită mecanismelor de secluziune foarte eficiente, la un număr limitat de canale, care sînt continuu controlate și ordonate. Agresiunea noxelor externe vizează mai puțin integralitatea corporală a acestor viețuitoare, astfel încît substratul biologic al acestor sisteme nu „a memorat" mesajele externe corespunzătoare și, în consecință, nu a elaborat răspunsuri cuvenite. La păsări, pierderea unui membru, a unei aripi înseamnă o agresiune la adresa homeostaziei de structură, agresiune imposibil de contracarat printr-un răspuns adecvat din partea sistemului integral. Totuși, aceste organisme, în pofida faptului că sînt intolerante la abaterile de la normă ale parametrilor mediului lor intern, suportă ablații subtotale ale organelor interne, pe care le refac curînd după intervenție. Este adevărat că exereza a 2/3 din ficat, de pildă, este o agresiune la adresa homeostaziei de structură a acestui subsistem de importanță vitală pentru organism. Totuși, homeostazia funcțională a întregului sistem nu este afectată, datorită caracterului redundant al subsistemului lezat, datorită rezervei sale funcționale. În fond, organele interne capabile de regenerare reprezintă adevărate sisteme individualizate, cu o structură caracteristică mult mai simplă decît cea a sistemului integrant, cu o anumită integralitate de asemenea inferioară sistemului integrant și cu o homeostazie proprie, care suportă abateri de la normal în ceea ce privește forma și structura. Abaterile de ordin funcțional pe care le suportă asemenea sisteme nu pun în pericol existența lor.

Scanned with OKEN Scanner

În primul rînd, organele interne sînt foarte apropiate de sistemele homonome. În orice caz, multirepetarea sistemelor tisulare în toate compartimentele lor de organizare înseamnă repetarea potențialităților lor funcționale și genetice.

Cum homeostazia de ansamblu a sistemului integral nu suportă abateri de formă și nici abateri în funcționalitatea sistemului, se pune problema participării subsistemelor restante la asigurarea invariabilității coordonatelor funcționale ale întregului.

Existența unei rezerve funcționale, conferită de caracterul redundant al organelor interne, permite acestora să pună în joc, cu intensitate crescută, funcția părților restante în urma unei amputații. Coordonatele funcționale ale acestor părți se schimbă foarte mult, ceea ce indică o toleranță crescută și un grad de homeostazie mai lejer.

Toleranțele metabolice ale sistemelor în refacere sînt mult mai mari decît cele ale sistemului integrant. Subordonate sistemului integrant, anvergurile destul de largi ale variațiilor metabolice ale subsistemelor fac serviciul asigurării homeostaziei organismului, a cărui toleranță față de abaterile de la normal este foarte redusă. Totuși, intră în discuție în ce măsură variațiile de homeostazie ale subsistemelor sale, induse de către injurii aduse la adresa integralității lor, au un ecou la nivelul întregului.

Caracterul neliniar al sistemelor biologice le conferă proprietatea de a nu varia proporțional, în cadrul sistemului integrant, în mod obligatoriu toate subsistemele corelate cu subsistemul lezat. De fapt, toate datele experimentale cu privire la modificările la distanță ale sistemului integrant, în condițiile variației homeostaziei unuia dintre subsisteme, înregistrează abateri mici de la valorile-normă.

Nu trebuie însă pierdut din vedere că homeostazia unui sistem biologic de cea mai înaltă complexitate structurală nu implică invariabilitatea absolută a parametrilor funcționali. Fiecare din coordonatele funcționale ale sistemului prezintă o adevărată zonă în limitele căreia sînt posibile anumite oscilații.

Excizia parțială a unui subsistem al organismului conduce, datorită transmiterii neliniare, neproporționale a informației, la variații corespunzătoare în limitele zonei de homeostazie-normă în toate subsistemele corelate din releul sistemului integrant.

Imposibilitatea regenerării extremităților la euribiontele de tip superior este dată și de faptul că extremitățile înseși realizează secluziunea reclamată de înaltul grad de homeostazie pe care-l au. O pasăre lipsită de aripi devine penetrabilă la informații haotice din mediu, deschide în organismul ei posibilitatea apariției unor canale neordonate, care-i măresc entropia, duc la dezordini în sistem și, prin aceasta, la distrugerea lui.

La organismele superioare, extremitățile formează un adevărat sistem de secluziune, un sistem unic, care nu poate regenera. În schimb, organele interne sînt capabile de regenerare chiar în condițiile unei exereze a 2/3 din biomasa lor, cum este cazul ficatului. Homeostazia sistemului integral nu suferă în asemenea condiții datorită unei rezerve funcționale deținute de partea restantă a organului. Exacerbarea funcțiilor la nivelul părții restante este posibilă pentru că homeostazia sistemului integral este asigurată, în condiții normale, prin funcționarea sub capacitatea maximă a fiecărui sistem tisular.

Scanned with OKEN Scanner

Această homeostazie este asigurată și în condițiile în care unul dintre subsisteme este prezent chiar numai printr-o treime din greutatea lui normală.

În aceste condiții, restul de organ funcționează deasupra nivelului său normal — optim — de activitate. Echilibrul fiziologic — homeostazia sistemului integral — este menținut prin activitatea fiziologică crescută a părților restante. Această activitate peste limitele normalului nu poate fi însă decît temporară, motiv pentru care legăturile intrasubsistemice devin forțe motrice morfogenetice și determină regenerarea. În acest caz, morfogeneza are calitatea de a redresa capacitatea funcțională a organului lezat prin hiperplazie și hipertrofie, și nu structura sa.

Organele perechi, în condițiile ablației unuia dintre parteneri, contribuie la homeostazia de ansamblu a întregului prin participarea compensatorie a homologului restant. Organele neperechi asigură, în final, homeostazia sistemului integrant prin același mecanism compensator.

La nivelul organelor interne, putem delimita adevărate sisteme homologe, care, prin structura și mai ales prin funcțiile lor, pot asigura homeostazia întregului în condițiile unei ablații parțiale. Astfel, chiar glandele salivare formează un asemenea sistem corelat, alcătuit din mai multe unități separate topografic, dar care răspund unitar în condiții de exereză.

În orice caz, organele interne, fiind redundante, deținînd rezerve funcționale, pot asigura homeostazia de ansamblu a sistemului integral, inițial prin hiperfuncție, apoi prin compensarea structurilor absente. Regenerarea înseamnă în acest caz multiplicarea elementelor restante, refacerea competenței funcționale a subsistemului, refacerea sa ponderală și volumetrică în condițiile distorsionării de formă. Se pare că, cel puțin pentru un timp limitat, această distorsiune de formă este nesemnificativă pentru homeostazia de ansamblu a sistemului integral.

Oricît de înaltă ar fi homeostazia euribiontelor de tip superior, valoarea parametrilor de structură și de funcție se poate modifica în cadrul unei anumite zone. În ceea ce privește structura, distorsiunea organelor interne este compatibilă cu desfășurarea normală a funcțiilor vitale. În ceea ce privește funcțiile, limita zonei care circumscrie variațiile funcționale posibile este mult mai îngustă.

Homeostazia sistemului integrant, în condițiile regenerării organelor interne, comportă trecerea de la o anumită stare staționară, de la un anumit echilibru dinamic la stări noi, din ce în ce mai îndepărtate de starea probabilă, haotică, în care a intrat subsistemul interesat de injurie.

Mecanisme compensatorii de ordin metabolic se opun creșterii entropiei; echilibrul fluent dintre sistemul integral și mediu se menține, deși unul din subsistemele organismului a suferit o abatere de la starea staționară.

În perspectiva acestor observații, regenerarea înseamnă o succesiune de stări din ce în ce mai ordonate, un curs descrescînd al valorii entropiei, o suită de etape diferite calitativ, cuprinse între limitele stării homeostaziei sistemului. Cu alte cuvinte, regenerarea se desfășoară printr-o succesiune de evenimente, al căror curs, pornind de la o anumită stare de dezordine, cauzată de acțiunea injuriei, evoluează în sensul creșterii ordinii, al scăderii entropiei, al unei superiorizări care, din punct de vedere funcțional, atinge valoarea cîștigată de către subsistemul interesat în însăși morfogeneza normală.

Scanned with OKEN Scanner

Întregul curs al modificărilor cauzate de regenerare se înscrie în limitele zonei de toleranță a sistemului integral. Aceste limite sînt decise de gradul de homeostazie a sistemului, homeostazie dependentă de gradul de superiorizare, de anageneză, pe care sistemul respectiv l-a atins în filogenie.

Dacă la euribiontele de tip superior regenerarea extremităților nu este posibilă, acestea fiind interesate, în primul rînd, în secluziune, regenerarea organelor interne poate avea loc datorită posibilităților de compensare a structurilor homologe în limitele capacității de toleranță decise de homeostazia sistemului.

Regenerare și autoreglare

Homeostazia sistemului viu se realizează prin reglarea activă a parametrilor interni. Factorii reglați grație existenței acestor mecanisme se mențin la valori cuprinse în limitele unei zone a cărei întindere este diferită în funcție de toleranțele interioare și de poziția filogenetică a sistemului respectiv.

Regenerarea aduce însă în discuție nu numai existența acestor mecanisme, ci și eficiența lor.

Se pune, în primul rînd, problema limitei reglării în sensul abaterii maxime de la structura înțeleasă cantitativ, cu alte cuvinte cantitatea maximă de biomasă care poate fi „reglată", restituită, prin regenerare.

La nevertebratele inferioare, exclusiv protozoarele, sistemul integral poate fi considerat în ultimă instanță, datorită capacității lor de embriogeneză somatică, suma unor sisteme totipotente, care pot regenera întregul. Din acest punct de vedere, abaterea cantitativă de la biomasa normală este nelimitată.

Odată cu individualizarea sistemelor morfogenetice cu potențialități parțiale, abaterea de la structura-normă este circumscrisă în anumite limite. Exereza totală în afara limitelor unui teritoriu, în afara limitei sistemului morfogenetic respectiv, face imposibilă regenerarea sistemului în sensul restituției sale integrale. Limita maximă a reglării este deci decisă de limita morfogenetică a sistemului, pentru că sistemele morfogenetice vecine nu au competența refacerii elementelor unui alt sistem.

În cazul organelor interne, limita maximă a reglării este decisă de pragul minim pînă la care sistemul restant, punînd în joc maximul competenței sale funcționale, asigură homeostazia sistemului integral.

Eficiența mecanismelor de reglare în cazul regenerării asigură, mai mult sau mai puțin, realizarea „scopului" fenomenului de restituție, respectiv nedepășirea acestui „scop".

Cu alte cuvinte, reglarea în regenerare înseamnă nu numai restituția părților ablate în limitele cantitative ale normalului, dar și împiedicarea heteromorfozelor, stoparea la timp a proliferărilor celulare, a diferențierilor. Regenerarea reglată înseamnă refacerea părților absente, în sensul recîștigării, mai mult sau mai puțin fidele, a formei și a competenței funcționale a organului pierdut.

Cu privire la natura procesului de reglare în regenerare, se descriu două modalități: un proces oscilant periodic, în cazul regenerării fiziologice,

Scanned with OKEN Scanner

și un proces aperiodic, în cazul regenerării reparative actualizate de acțiunea unui stimul perturbant exogen.

În primul caz, gradul de amortizare este mult mai mare, regenerarea fiziologică fiind permanentă, programată ca o „stare" în sistemul viu. În al doilea caz, gradul de amortizare este sau mai mare, sau mai mic, regenerarea reparativă fiind un proces incidental, iar eficiența reglării fiind mult mai redusă.

Mecanismul reglării nu a fost studiat în cazul regenerării. Întrucît organismul viu este un sistem cibernetic cu autoreglare, presupunem existența acțiunii de retroaferentație, de *feed-back*. Regenerarea avînd la bază procesul de creștere și de multiplicare a substanței vii, legătura inversă este negativă, creșterea regeneratului fiind proporțională cu masa corporală rămasă după amputație.

În mediul lor de viață, organismele vii sînt supuse, printre altele, acțiunii unor factori perturbanți (stressori), care le pot priva de o parte, mai mult sau mai puțin extinsă, din corp. Pierderea este reversibilă la nevertebrate și la vertebratele inferioare, dar ireversibilă la vertebratele superioare.

În cazul în care este pierdut un organ sau o parte corporală esențială pentru funcțiile vitale ale organismului, pierderea este incompatibilă cu viața, modificarea este ireversibilă și deci restituția părții ablate apare ca un nonsens.

Cînd structurile pierdute nu primejduiesc, prin calitatea lor, viața organismelor, deci nu reprezintă structuri vitale, pierderea apare ca reversibilă sau, dimpotrivă, ca ireversibilă. În acest din urmă caz, deși structurile pierdute sînt irecuperabile teoretic, viața organismelor este posibilă; cu timpul însă, neajunsurile conferite de absența unei părți din organism se fac simțite și subiecții mutilați sînt eliminați prin selecție naturală.

Reversibilitatea structurilor materiei vii implică existența unor mecanisme de reglare datorită cărora, după încetarea acțiunii factorului stressant, structura pierdută revine la starea ei inițială.

Este adevărat că funcțiile reglatorii, active, din cursul regenerării nu sînt întotdeauna în măsură să readucă elementul reglat (subsistemul-parte) în regenerare la un aspect superpozabil normalului. Cel mai adesea, regeneratul nu este, nici structural și nici funcțional, de calitatea originalului; nici ca sensibilitate, nici ca motilitate, regeneratul nu se apropie de normal.

Precizia reglării nu crește în decursul evoluției, după cum nu crește nici viteza cu care structurile absente se reconstituie. Considerații aparte merită însă regenerarea de tip compensator privind organele interne la păsări și mamifere. Aceste organisme nu suportă nici cele mai mici abateri de la normal, fapt pentru care sînt puse în joc mecanisme de reglare care readuc la valori normale structurile dereglate ca formă și ca funcție. Așa se explică faptul că compensarea defectelor de structură și de funcție se realizează cu o viteză uimitoare.

Imprecizia regenerării la organismele inferioare se explică tocmai prin faptul că toleranța lor față de abaterile de la normal este foarte mare și deci și mecanismele lor de reglare sînt mai slabe.

Regenerarea este, în primul rînd, o problemă de refacere funcțională, dar în același timp și o problemă de refacere structurală. Din punctul de vedere al refacerii structurale, reconstituirea unei părți absente din organism reclamă mai întîi o sinteză sporită de proteine, sinteza unor proteine speci-

Scanned with OKEN Scanner

fice îndeplinirii unei anumite funcții. Orice ablație de structură cauzează o deficiență funcțională, ceea ce are drept rezultat sporirea producției de proteine.

Dealtfel, cel puțin în cazul organelor interne, ablația parțială are ca efect scăderea momentană a produșilor finali ai căilor metabolice în circuitul cărora organul respectiv este integrat. În acest sens, sînt activizate prin retroacțiune acele enzime prin care se ajunge la creșterea produșilor respectivi. În organul restant, sinteza enzimelor este accelerată conform necesităților fiziologice ale sistemului integrant. Cu alte cuvinte, restul de organ trebuie să-și sporească randamentul funcțional pentru a acoperi deficiența funcțională a întregului organ. Mecanismele de control *feed-back* asigură nu numai acest aspect al restituției care, din punct de vedere funcțional, satisface necesitățile regenerării, ci și aspectul structural al refacerii cantitative a organului.

Într-adevăr, în urma amputației, sistemele tisulare restante nu pot lucra indefinit peste nivelul lor optim de activitate; ele ar sucomba prin epuizare. Este deci obligatorie producția de noi celule, o sinteză sporită de proteine necesare edificării de noi celule generate prin diviziune celulară. În aceste condiții de supraproducție de material proteic, de enzime, are loc restabilirea echilibrului fiziologic.

Cum sinteza proteinelor este, în ultimă instanță, o expresie a activității genelor, creșterea compensatorie asociată cu necesitățile funcționale ale regeneratului poate fi corelată cu activitatea genetică.

Pe de altă parte, nivelul populației celulare, realizat prin mecanismele regenerării compensatorii, exercită prin *feed-back* un control continuu asupra organului în regenerare, în speță privind sinteza de ADN și replicarea de ARN.

Atît timp cît populația de celule este insuficientă, incompetentă funcțional, enzimele care potențează asamblarea precursorilor acizilor nucleici sînt active, cantitatea de acizi nucleici crește, asigurîndu-se toate condițiile proliferării de noi celule. Creșterea cantitativă a acizilor nucleici, decelabilă în prima fază a regenerării compensatorii, contravine stabilității absolute a materialului genetic. În acest caz sînt deficitare mecanismele de control *feed-back*, lipsind sincronismul echilibrat dintre producția de acizi nucleici și nașterea noilor celule. Această fază de „dezordine" în procesul regenerării este curînd depășită, producția de celule crescînd sincron cu creșterea cantitativă a acizilor nucleici. Nivelul entropiei scade, semnalînd eficiența mecanismelor de reglaj genetic al regenerării compensatorii.

Aceste mecanisme privesc deci, în primul rînd, sinteza acizilor nucleici și a proteinelor, elementele „receptacul" ale informației ereditare, elemente mai greu deformabile din punct de vedere cantitativ.

Funcționalitatea regeneratului, măsurată prin parametrii metabolismului glucidic sau lipidic, cade de asemenea sub controlul retroacțiunii produșilor finali, probabil în afara aparatului genetic, eficiența acestui control fiind mult sub nivelul celui genetic.

Pe lîngă acest control, al cărui sediu este însuși organul în refacere, un subsistem în regenerare este supus în mod indubitabil mecanismelor de control puse în joc de sistemul integrant.

Regenerarea, ca orice fenomen de creștere, reclamă o funcționare normală a sistemului nervos și umoral, factori ai integralității organismului.

Scanned with OKEN Scanner

Considerăm că eliberarea unui factor plasmatic de către organul în regenerare, factor mai mult sau mai puțin specific, accelerator al diviziunilor celulare, nu face parte din mecanismele de control ale regenerării. Acest factor, care acționează la distanță și asupra altor organe, chiar neomologe sistemului în refacere, este expresia „dezordinii" induse de acțiunea injuriei la nivelul organului în refacere; el este cu atît mai abundent, cu cît agresiunea este mai recentă. Acțiunea acestui factor determină propagarea dezordinii și în alte sisteme, necorelate direct cu sistemul în refacere, ceea ce nu este util organismului și nu contracarează acțiunea stimulului injuriei. Reducerea cantitativă a acestui factor accelerator al diviziunii celulare este efectul perfecționării mecanismelor de control local al regenerării.

În desfășurarea procesului regenerativ nu poate fi negată nici existența unor mecanisme centrale aparținînd sistemului integrant. Dar experiența noastră privind acest fenomen *in vitro* ne conduce la concluzia că subsistemele în restituție, desprinse din ansamblul corelațiilor intersubsistemice, dispun de mecanisme de autoreglare proprii. Aceste mecanisme duc la desfășurarea regenerării compensatorii *in vitro*, întocmai ca și *in vivo*.

La organismele inferioare, controlul regenerării pare a fi executat de asemenea prin retroaferentație. Este posibil ca între regenerat și ganglionii neurosecretori să existe o legătură *feed-back*. Neurosecreția pare a fi cu atît mai abundentă cu cît necesitățile de creștere induse de fenomenul de regenerare sînt mai imperioase. Pe măsură ce organul pierdut este recuperat, între organul receptor al noxei, care este însuși efectorul comenzii de restituție, și centrul de comandă se stabilește un raport de legături reciproce. În timp ce regenerarea progresează, organul pierdut fiind recuperat, cantitatea de neurosecreție scade.

Menținerea unei succesiuni ordonate în desfășurarea procesului regenerativ este rezultatul unor fenomene de inducție morfogenetică ce au la bază legătura imediată a unui subsistem cu un alt subsistem din proximitatea sa spațială. Alături de substanțele inductorii, s-au pus în evidență, atît la animalele inferioare, cît și la cele superioare, unele substanțe inhibitorii, a căror acțiune se opune repetării aceluiași subsistem din cadrul sistemului integrant. Coroborarea dintre aceste substanțe inhibitorii și inductorii asigură desfășurarea echilibrată și controlată a morfogenezei regenerative.

Autocontrolul regenerării la organismele cu sisteme morfogenetice parțiale ridică, în primul rînd, problema competenței blastemelor regenerative, precum și a raportului dintre aceste blasteme și întreg. Din punct de vedere cibernetic, fiecare blastem regenerativ este format dintr-o serie de elemente de structură, cărora le sînt proprii anumite funcții. După cum nu există structură fără funcție sau invers, tot așa fiecare element de structură nu poate exista în afara unui sistem. Proprietățile unui element din cadrul unui sistem depind de corelațiile pe care le stabilește elementul respectiv în cadrul sistemului. Componentele unui sistem au o anumită semnificație în raport cu întregul, au un anumit rol funcțional, îndeplinit, între anumite limite, și de alte componente ale unui alt sistem în cazul în care ele posedă proprietăți similare sau dispun de capacitatea de a-și însuși proprietăți noi.

Corelațiile stabilite între componentele unui blastem regenerativ conferă acestuia competența sa specifică.

Scanned with OKEN Scanner

Dintre elementele componente ale unui blastem regenerativ, epiteliul, țesutul mezodermal și sistemul nervos sînt factori de prim ordin, ale căror corelații conferă competența blastemului și reglează automat desfășurarea restituției.

Prezența nervilor la nivelul bontului regenerativ este esențială, deși acțiunea nervilor este nespecifică. Prin substanța trofică pe care o pun în joc, nervii reprezintă stimulul primar al procesului de multiplicare celulară și, totodată, receptorul cel mai sensibil față de acțiunea noxei.

Faptul că nervii sînt necesari în regenerare numai în măsura în care ei au preexistat, anterior amputării, în sistemul respectiv ne îndreptățește să credem că prezența lor nu decide competența morfogenetică a sistemului, ci pur și simplu capacitatea proliferativă a țesuturilor.

Scufița epidermală reprezintă al doilea element din componența blastemului regenerativ ce primește informații comandate de sistemul nervos.

Interacțiunea epiteliului cu țesuturile mezodermale conferă blastemului regenerativ competența sa morfogenetică. Această interacțiune reprezintă circumstanța majoră, esențială, în promovarea regenerării.

Atît epiteliul, cît și țesuturile mezodermale au o acțiune specifică, interrelația dintre ele fiind decisivă pentru diferențierea regeneratului.

Orice cauză care se opune stabilirii interrelației normale dintre aceste elemente deviază cursul normal al regenerării sau suspendă însăși competența restituțională a sistemului.

Regenerarea poate fi privită însă nu numai ca un proces local, ci și ca un fenomen sistemic, care ține de întregul organism și interesează o serie de factori ai acestuia. Este posibil ca, în intervenția lor, nervii și organele endocrine să se intercondiționeze în desfășurarea procesului regenerativ. Este de asemenea posibil ca, de la suprafața de rănire, să se transmită pe cale neurală o serie de stimuli, care, la rîndul lor, să pună indubitabil în joc cel puțin axa pituitaro-adrenală a sistemului.

În blocul cibernetic reprezentat de un blastem regenerativ, autoreglarea este asigurată de o serie de circuite inverse, comenzi-reglaje. Intrările în sistem sînt sub controlul continuu al informației recurente, care asigură eficiența sistemului, propria sa restituție.

Suspendarea competenței morfogenetice la nivelul extremităților vertebratelor superioare este, printre altele, expresia lipsei de interacțiuni morfogenetice între elementele bontului, precum și, la acest nivel, a ineficienței mecanismelor de reglare.

Scopul regenerării este restabilirea structurală și funcțională a sistemului amputat. Mecanismele de reglare trebuie deci să asigure acest dublu scop al regenerării.

Forma regeneratului nu este esențială în cazul regenerării de tip compensator, decisivă fiind populația de elemente nobile, funcționale, ale regeneratului. În acest caz, interacțiunile intrasubsistemice au competența restituției nivelului populațional normal. Mecanismele de reglare se instalează și asigură competența funcțională a regeneratului, dar sînt cu totul ineficiente în rezolvarea distorsiunii morfologice a acestuia.

La urodele, mecanismele restituționale autocontrolate în mod continuu, prin urmărirea programului care le cuprinde, asigură restituția morfofuncțio-

Scanned with OKEN Scanner

nală a extremităților. Aceste extremități regenerate sînt, mai mult sau mai puțin, superpozabile modelului inițial, creat și realizat prin mecanismele morfogenetice embrionare.

La organismele inferioare, morfogeneza regenerativă se desfășoară mult mai simplu, controlul ei neridicînd problema restituției unor subsisteme de complexitate morfologică și funcțională prea mare, fapt ce explică existența unor heteromorfoze frecvente. Aceste heteromorfoze sînt cu atît mai dese cu cît înseși mecanismele primare ale morfogenezei sînt mai puțin controlate. Înseamnă că scăderea gradului de integralitate a organismelor comportă existența unor mecanisme de reglaj foarte puțin eficiente, mai simple, mecanisme care pot chiar lipsi la sistemele inferioare.

Dealtfel, autoreglarea apare numai în sistemele cu o anumită complexitate structurală, în care, pe lîngă organul receptor, organul-comandă și organul efector, există posibilitatea materială și necesitatea biologică a reglării stimulilor perturbatori exogeni sau endogeni. Astfel, de pildă, la spongieri forma regeneratului și funcția lui nu au o importanță pentru întreg. Lipsește necesitatea biologică și, consecutiv, calea materială a reglării formei și a funcției regeneratului.

La organismele îmbătrînite, capacitatea de regenerare, precum și acuratețea acestui proces scad simțitor. Cauza o reprezintă descreșterea funcțiilor mecanismelor integratoare, slăbirea capacității de autoreglare a mecanismelor morfogenetice. Frecvența crescută a heteromorfozelor la organismele îmbătrînite, aceste semne de dezordine a sistemului, dezordine pe care sistemul nu o poate regla, probează părerea pe care am exprimat-o.

Regenerare și selecție naturală

Una din necunoscutele regenerării o reprezintă problema raportului dintre selecția naturală și populațiile, speciile, cu mare capacitate de regenerare. În fond, este vorba despre valoarea fenomenului regenerativ în raport cu supraviețuirea individului și cu perspectivele speciei.

Rezolvarea acestei probleme reclamă de la bun început adoptarea unei poziții în cîteva aspecte de bază ale biologiei teoretice, și anume:

— Care este raportul dintre individ și unitatea sa superioară, specia, unitate care integrează individul?

— Care este rolul selecției naturale și al mecanismelor ei de acțiune?

— Care este explicația ubicuității adaptării?

— Care este valoarea principiului utilității adoptat de DARWIN?

În perspectiva teoriei sistemelor, individul reprezintă un element component al populației, subordonat ei, un subsistem al sistemului alcătuit de către populație. Această subordonare a individului față de populație se reflectă în înseși trăsăturile individului, în comportamentul lui, în tot specificul funcțiilor sale. Caracteristica trăsăturilor individuale este expresia evoluției speciei. Mai mult decît atît, caracteristicile individuale trebuie apreciate prin prisma utilității lor pentru viața speciei. Înseamnă că reproducerea indivizilor, ca tot ceea ce este legat de autoconservarea lor, servește, în ultimă instanță, populația și specia.

Scanned with OKEN Scanner

Regenerarea prezintă raporturi directe sau indirecte cu cele două funcții esențiale ale unui organism: autoconservarea și reproducerea. Aceste funcții sînt subordonate legii selecției naturale, motiv pentru care și regenerarea are raporturi, directe sau indirecte, cu fenomenul selecției naturale.

Este știut că la organismele inferioare numărul celor care cad pradă vicisitudinilor existenței este extraordinar de mare, coeficientul de supraviețuire fiind extrem de mic. În acest caz, selecția naturală a condus, pe de o parte, la elaborarea unor mecanisme pasive, de apărare, iar pe de altă parte la o extraordinară prolificitate.

Capacitatea de regenerare a formelor inferioare de viață (protozoare, spongieri, celenterate) este uimitoare, regenerarea îmbrăcînd însă aspectul embriogenezei somatice. Acest fenomen este superpozabil, ca valoare biologică, reproducerii, întrucît contribuie deopotrivă la compensarea pierderilor masive ale populațiilor. Populațiile inferioare au astfel, prin excelență, un caracter redundant, ceea ce face ca rolul individului în viața speciei să fie neglijabil.

Dealtfel, embriogeneza somatică reprezintă o totală negare a individului în favoarea speciei. Subordonarea individului nevoilor speciei este evidentă. Regenerarea nu apare deci ca o formă de autoconservare a individului, ci, dimpotrivă, este mijlocul cel mai eficient de negare a vechii individualități în favoarea îndeplinirii cerinței supreme a sistemului populațional, adică a perpetuării acestuia. Selecția naturală a promovat, în cazul organismelor cu integralitate redusă, cele mai simple și mai eficiente forme ale reproducerii, subordonînd însăși regenerarea, nu nevoilor individului, ci nevoilor speciei. Embriogeneza somatică apare ca o proprietate utilă speciei, ca o formă de adaptare a organismelor la vicisitudinile existenței. Selecția naturală a promovat însă și a perfecționat acest mod de regenerare, conferindu-i aceeași importanță ca și regenerării.

La organismele superioare, populațiile devin tot mai puțin redundante, astfel încît supraviețuirea unui individ sau pierderea acestuia nu este tocmai indiferentă pentru specie. Selecția naturală își pierde tot mai mult caracterul statistic, devenind un factor dinamic ce asigură supraviețuirea tuturor acelor indivizi care poartă caracteristici favorabile în raport cu necesitățile speciei. Din aceste motive, se pune problema utilității fenomenului regenerativ atît pentru individ, cît și pentru specie.

Regenerarea completă, în sensul identității regeneratului cu originalul, este extrem de rară în lumea viețuitoarelor. Cazurile de homeomorfoză sînt practic inexistente. Chiar dacă, din punct de vedere morfologic și funcțional, sistemele tisulare nou formate corespund întocmai celor originale, există totuși întotdeauna anumite deosebiri. Un examen atent al regeneratului pune în evidență anomalii arhitectonice, simplificări în structura țesuturilor neoformate, modificări de ordin cantitativ, care de cele mai multe ori sînt în detrimentul calității regeneratului. Cazurile de heteromorfoză, de supraregenerare, de supraproducție tisulară sau de hipomorfoză sînt destul de frecvente. Alteori, în cursul regenerării se produce o regrupare celulară, care determină neregularități în structura țesuturilor neoformate.

Pe lîngă faptul că regeneratul este foarte rar tot atît de „bun" ca și originalul, el nu se apropie nici structural, nici funcțional, nici ca sensibilitate, nici ca mobilitate de organul pe care-l înlocuiește. Pe de altă parte,

Scanned with OKEN Scanner

pentru edificarea unui regenerat, pentru completa lui refacere, sînt necesare uneori săptămîni sau chiar luni de zile.

Cu toate acestea, vertebratele inferioare își regenerează extremitățile. La nivelul individului, regenerarea extremităților pierdute este expresia celei mai acute forme a autoconservării. Fenomenul este însă lipsit de utilitate atît pentru individ, cît mai ales pentru specie. Indivizii mutilați (fără coadă, fără membre) cad ușor pradă în competiția intra- și interspecifică. Chiar acei reprezentanți ai speciei care și-au refăcut partea pierdută nu rezistă în competiția pentru viață, pierind, de cele mai multe ori, înainte de a-și fi îndeplinit „chemarea" supremă a speciei, reproducerea. Înseamnă că regenerarea extremităților la vertebratele inferioare nu este un fenomen adaptativ, deci utilitatea lui stă sub semnul incertitudinii.

Se pune însă întrebarea: pentru ce a fost menținut acest proces, de ce grupe mari de vertebrate își regenerează părțile pierdute?

Considerăm că există cel puțin două cauze, și anume:

Pe de o parte, capacitatea de regenerare a fost selectată împreună cu alte proprietăți realmente utile, realmente avantajoase în lupta pentru existență. Ea a fost promovată, menținută, deși din punctul de vedere al utilității pentru specie este un nonsens.

Pe de altă parte, regenerarea extremităților s-ar datora activității unor gene care sînt active în viața embrionară și care își mențin activitatea și la adult. Această aserțiune își găsește confirmarea în evidenta convergență dintre regenerare și dezvoltarea embrionară. Într-adevăr, în regenerarea extremităților intervin aceleași fenomene de migrație, de dediferențiere, de diferențiere și morfogeneză ca și în cazul dezvoltării embrionare. Din aceste date rezultă că genele care țin sub dependența lor formarea fiecărui organ (coadă, membre, cristalin etc.) se mențin active și la adult. În condițiile integrității corporale, la adult, aceste gene sînt inhibate. Mutilarea organismului le eliberează însă din inhibiția în care se găsesc, astfel încît ele „dictează" regenerarea părții pierdute. Faptul că regeneratul nu este copia perfectă a originalului devine astfel explicabil. Corelațiile intersubsistemice și intrasubsistemice la adult sînt total diferite de cele existente în decursul dezvoltării embrionare.

În orice caz, capacitatea de regenerare la vertebratele inferioare, chiar dacă nu reprezintă o proprietate utilă, este indiferentă pentru specie. Astfel, selecția naturală a menținut această proprietate, a promovat-o, fără s-o perfecționeze, alături de alte proprietăți realmente utile, a căror valoare este indubitabilă pentru supraviețuire.

În fond, selecția naturală nu acționează ca un *deus ex machina*. Organizarea vieţuitoarelor nu este întotdeauna ideală, dovadă că, alături de proprietăți utile, avantajoase, persistă anumite „lipsuri", anumite proprietăți inutile, indiferente sau chiar dăunătoare.

Să nu trecem însă cu vederea faptul că, în anumite cazuri, regenerarea restaurează o copie într-adevăr exactă a părții pierdute. În această situație, regenerarea apare ca o proprietate utilă și poate fi privită ca un proces adaptativ.

La vertebratele superioare, capacitatea de regenerare a extremităților dispare. Se pune problema cauzei dispariției acestui fenomen, precum și a utilității dispariției caracterului regenerativ pentru specie și pentru individ.

Scanned with OKEN Scanner

Pierderea putinței de regenerare, privită ca potențialitate, înseamnă pierderea uneia din formele de autoconservare a individului. În fața acestei pierderi, selecția naturală a perfecționat însă alte proprietăți, de valoare și utilitate mult mai mari pentru conservarea speciei, și anume homeostazia și termoreglarea.

La vertebratele superioare, „sîngele cald" reprezintă o circumstanță favorabilă proliferării microorganismelor patogene. Selecția naturală a promovat sporirea rapidă a formațiunilor cicatriceale, care obturează rănile și se opun invaziei microorganismelor. De aceea apare ca mult mai avantajoasă pentru vertebratele cu sînge cald potența de a închide calea de acces a factorilor biologici patogeni decît refacerea unei aripi sau a unui membru pierdut.

În evoluția vertebratelor, între avantajul de a reface extremitățile și avantajele oferite de homeotermie a cîștigat o importanță selectivă homeotermia, fapt pentru care capacitatea de regenerare a membrelor rămîne apanajul vertebratelor inferioare.

Presupunem că, chiar dacă ar fi fost păstrată capacitatea regenerativă a organelor externe de către vertebratele cu sînge cald, valoarea acestui fenomen în ceea ce privește supraviețuirea ar fi fost nulă. Nici păsările și nici mamiferele nu rezistă la inaniție. Membrele acestor euribionte de tip superior sînt întrebuințate în scopuri numeroase. Extremitățile păsărilor și ale mamiferelor sînt organe deosebit de mobile, utile în atac, în apărare, în procurarea hranei, în finisarea unui microclimat adecvat necesităților vitale ale viețuitoarelor. Într-un cuvînt, extremitățile vertebratelor superioare sînt structuri cu importanță vitală, ceea ce înseamnă că ele nu pot, prin definiție, regenera. În timpul reclamat de restituția lor, animalele mutilate ar muri prin inaniție sau, schilodite fiind, ar cădea pradă răpitoarelor. În fața unei asemenea situații, selecția naturală a promovat extincția capacității regenerative a membrelor, dictînd formarea unui țesut cicatriceal fibros, care se interpune ca o barieră în calea interrelațiilor dintre epiteliu, țesutul nervos și elementele mezenchimale, elemente a căror interacțiune reprezintă una din forțele motrice cele mai importante în restituția extremităților la vertebratele inferioare.

În esență, regenerarea extremităților la vertebratele superioare rămîne o imposibilitate, nu atît din punctul de vedere al mecanismelor restituționale, cît din punct de vedere biologic. Selecția naturală elimină, prin distrugere, pe toți cei schilodiți, integralitatea corporală a indivizilor fiind o necesitate din punct de vedere biologic. Nimic nu poate compensa lipsa unei aripi sau a unui picior la o pasăre, la un răpitor sau la un erbivor. În asemenea cazuri, selecția naturală acționează prompt și fără cruțare.

Înseamnă că la vertebratele superioare nu regenerează nici o structură externă complexă. Cauza o reprezintă importanța vitală a acestor structuri, interesate mai ales în procurarea hranei și în amenajarea habitatului. Nici chiar structurile externe, cum sînt coada sau urechile, nu regenerează, dat fiind că importanța lor nu este suficient de mare în procesul supraviețuirii. La aceste animale vor regenera doar acele structuri care nu sînt esențiale din punct de vedere vital, dar sînt totuși suficient de importante pentru a constitui un avantaj în fața selecției naturale.

Un bun exemplu în acest sens îl oferă coarnele cervidelor. Ele pot fi pierdute fără a jena supraviețuirea animalelor, dar în același timp prezența lor conferă purtătorilor un real avantaj în fața selecției naturale. Regene-

Scanned with OKEN Scanner

rarea coarnelor la cervide poate fi privită ca un caz special de adaptare a acestor animale la traume mecanice frecvente. Procesul de regenerare se realizează prin conversia elementelor componente dintr-un țesut mezodermal cu dezvoltare foarte rapidă. Deci, țesutul, care la celelalte mamifere este cauza inhibiției regenerării, devine la cervide însăși sursa acestui fenomen.

Se știe că cervidele fosile aveau coarnele mai scurte decît cervidele actuale. În decursul evoluției, coarnele s-au alungit și s-au adaptat frecventelor injurii mecanice la care au fost supuse, în sensul că însăși structura lor internă — vascularizarea — este astfel aranjată ca ruptura lor să nu fie urmată de sîngerare.

Capacitatea de regenerare a coarnelor la cervide este uimitoare. După amputare, coarnele prezintă chiar un fenomen de heteromorfoză. Însăși dăltuirea coarnelor stimulează regenerarea lor, după dăltuire acestea devenind mai lungi, mai ramificate decît în mod normal.

În general, avarii mici stimulează creșterea și regenerarea coarnelor, în timp ce avarii mai mari, mai extinse în suprafață perturbă regenerarea, iar avariile foarte extinse împiedică restituția coarnelor.

Se presupune că stimularea sau inhibarea regenerării coarnelor depind de măsura în care noxa a afectat craniul.

Atît în trecutul filogenetic, cît și în etapa actuală a dezvoltării cervidelor, coarnele lor au fost folosite ca arme ofensive, fiind vulnerabile la noxe repetate. Selecția naturală a favorizat indivizii care au fost capabili să-și vindece rănile coarnelor pe calea înlocuirii părților pierdute sau rănite.

Coarnele cervidelor regenerează însă și în mod periodic. Mecanismul care stă la baza procesului regenerativ în acest caz este, pur și simplu, cel al unei regenerări fiziologice. Dealtfel, procesul de înlocuire periodică a coarnelor la cervide are la bază o înmulțire exagerată a elementelor tisulare.

În orice caz, date fiind viteza și mai ales acuratețea cu care se desfășoară procesul regenerativ în cazul coarnelor cervidelor, nu se poate nega aspectul adaptativ al fenomenului.

Revenind la problema evoluției filogenetice a organismelor vii, este cert că se înregistrează o scădere a capacității regenerative pe parcursul treptelor filogeniei. La vertebratele superioare, extremitățile, avînd o structură histologică complexă, nu regenerează. Dacă includem însă în cadrul fenomenului de regenerare și așa-numita regenerare compensatorie, atunci situația este alta, în sensul că în decursul evoluției vertebratelor potențialitatea regenerativă crește. La animalele cu sînge cald nu există nici un țesut care, odată lezat, să nu-și refacă avaria. Numeroase țesuturi prezintă chiar o înaltă capacitate de morfogeneză histologică.

Raportînd această problemă pe plan filogenetic, capacitatea histogenetică apare ca fiind mai slabă la formele inferioare ale vertebratelor decît la cele superioare.

Pierzînd capacitatea de a-și reface extremitățile, vertebratele superioare regenerează, cu mare viteză și cu multă acuratețe, avariile la nivelul organelor interne. Mecanismul care stă la baza regenerării compensatorii este fenomenul de regenerare fiziologică. Selecția naturală a promovat perfecționarea regenerării fiziologice, putem spune chiar expresia forțată a acesteia, dată fiind hiperactivitatea funcțională a țesuturilor, impusă de complexitatea vieții terestre.

Scanned with OKEN Scanner

Este adevărat că injuriile pe care le înregistrează organele interne la vertebratele superioare sînt neglijabile în condiții normale. Dealtfel, însăși baza genetică a determinării procesului de restituție lipsește. Nu există nici o convergență între mecanismul dezvoltării ontogenetice și mecanismul procesului de restituție, convergență pe care am semnalat-o în cazul vertebratelor inferioare.

Probabil că genele „formatoare de ficat", „formatoare de rinichi" au fost „epuizate" total în cursul dezvoltării embrionare, cînd își încheie activitatea. Totuși, atît ficatul, cît și rinichiul se refac, regenerează, nu însă în sensul identității regeneratului cu produsul căii ontogenetice de dezvoltare, ci în sensul competenței funcționale a acestor organe. Acest proces de refacere nu este „comandat" genetic, dovadă că organul lezat nu se mai reface ca formă. Totuși, în condițiile distorsiunii morfologice, numărul de celule competent funcționale este același cu cel al numărului ideal.

În ultimă instanță se constată că, la baza procesului de regenerare compensatorie, stă regenerarea fiziologică. Organismul răspunde printr-o intensificare a mecanismelor normale ale regenerării fiziologice în condițiile deficitului morfologic al țesutului interesat.

Avînd în vedere deplina competență funcțională a regeneratului organelor interne, valoarea fenomenului în procesul de supraviețuire apare ca indubitabilă. Compensarea defectelor la nivelul organelor interne nu numai că asigură supraviețuirea indivizilor în cauză, dar permite acestora să-și îndeplinească „chemarea supremă" a speciei, reproducerea.

Într-adevăr, pe lîngă faptul că organele interne regenerează uimitor, integrarea regeneratului în întreg pare perfectă. Regeneratul nu numai că funcționează bine, dar, încadrîndu-se tot atît de bine în întreg, permite desfășurarea tuturor funcțiilor vitale. Această funcționare normală a organismului cu un organ regenerat este extinsă în timp în așa măsură, încît organismul respectiv se poate chiar reproduce.

Fenomenele de distrofie la nivelul acestor organe, fenomene care compromit existența individului, se instalează tîrziu în raport cu longevitatea organismului, ceea ce permite desăvîrșirea cerinței speciei, perpetuarea ei.

În asemenea condiții, valoarea hipertrofiei regenerative, precum și cea a regenerării compensatorii privind supraviețuirea nu pot fi negate. Valoarea este cu atît mai mare cu cît rapiditatea cu care se instalează fenomenele compensatorii este uimitoare și permite supraviețuirea individului. Pe de altă parte, extinderea în timp a funcționalității organismului cu un organ regenerat îngăduie însăși reproducerea.

Întrebarea care se pune gravitează în jurul problemei necesității biologice a exacerbării regenerării fiziologice.

Realitatea este că regenerarea organelor interne a devenit o necesitate de prim ordin la vertebratele superioare. Această necesitate este impusă nu de lezarea mecanică a acestor organe, ci mai ales de hiperfuncționalitatea lor. Astfel, organele interne ale vertebratelor superioare au devenit sisteme foarte complexe, suprasolicitate. În plus, mediul terestru cu complexitatea circumstanțelor sale oferă în mod continuu prilejul intervenției factorilor de agresiune. De aceea, grație acestora, injuriile care pot fi aduse organelor interne sînt multiple. În asemenea condiții este necesară suplinirea permanentă a materialului uzat sau avariat.

Scanned with OKEN Scanner

Selecția naturală a promovat supraviețuirea acelor exemplare care aveau o capacitate ridicată de regenerare și, totodată, dețineau alte proprietăți favorabile în condițiile vieții terestre. Selecția naturală nu a creat în acest caz ceva nou, ci a perfecționat mecanismele normale de autoreînnoire tisulară, mecanisme care, la reprezentanții superiori ai vertebratelor, capătă o mare importanță.

Din datele expuse reies o serie de concluzii, și anume:

1. Nu există o evoluție a fenomenului de regenerare, ci numai diferite forme de regenerare în funcție de poziția filogenetică a viețuitoarelor.

2. Selecția naturală a avut rolul ei în fenomenele de regenerare, nu atît în perfecționarea mecanismelor de restituție, cît mai ales în „căutarea" de noi drumuri mai eficiente, care să conducă la realizarea unui produs final cu reală valoare în supraviețuire.

3. La organismele inferioare, regenerarea îmbracă îndeosebi aspectul embriogenezei somatice. Acest fenomen reprezintă o negare a individualității în favoarea speciei. Procesul de regenerare este indiscutabil util, fiind superpozabil reproducerii.

4. Regenerarea extremităților la urodele reprezintă expresia autoconservării indivizilor. Ținînd seama de numărul indivizilor mutilați și regenerați care pot să-și îndeplinească funcția majoră în fața cerințelor speciei, valoarea acestui proces de restituție este îndoielnică.

5. Regenerarea extremităților la urodele are o determinare genetică.

6. Regenerarea reprezintă un fenomen adaptativ numai în cazuri rare, cînd regeneratul reproduce în mod identic originalul.

7. Regenerarea compensatorie la vertebratele superioare are la bază regenerarea fiziologică. În acest caz, determinarea genetică lipsește.

8. Regenerarea compensatorie reprezintă un fenomen util, promovat și perfecționat de către selecția naturală. Utilitatea procesului privește nu numai individul, ci și specia.

9. În condițiile vieții terestre, selecția naturală, anulînd capacitatea de refacere a extremităților, a acționat în sensul perfecționării altor trăsături ale organismelor vii, trăsături care au asigurat acestora o reală autonomie față de mediu, un real progres biologic.

10. Pierderea capacității de regenerare a extremităților la vertebratele superioare se datorește următoarelor cauze:

— Păstrarea homeostaziei organismului este o achiziție mai utilă pentru organismele superioare, fiind promovată de către selecția naturală în detrimentul funcției regenerative.

— Formarea unei cicatrice fibroase la nivelul rănii este necesară închiderii căii de acces a microorganismelor. Această barieră stînjenește interrelațiile intertisulare, forțe motrice ale regenerării.

— Extremitățile vertebratelor superioare (păsări, mamifere) reprezintă organele principale ale realizării secluziunii. Ele nu regenerează, dat fiind că, din punct de vedere biologic, refacerea lor ar fi un nonsens. Fiind organe de importanță vitală în realizarea secluziunii, pierderea lor, chiar pentru un timp limitat, este incompatibilă cu viața.

Scanned with OKEN Scanner

Bibliografie

1. Abeloos M., *La régénération et les problèmes de la morphogénese*, Gauthier-Villars, Paris, 1932.
2. Abeloos M., Lecamp M., C. R. Acad. Sci., 1931, **192,** 639.
3. Abercrombie M., Flint M. H., James D. W., J. Embryol. exp. Morph., 1954, **2,** 264.
4. Abercrombie M., Flint M. H., James D. W., J. Embryol. exp. Morph., 1956, **4,** 167.
5. Abrikosov A. I., Strukov A. I., *Anatomia patologică*, partea I, Edit. medicală, București, 1955.
6. Adams R. L. P., Biochem. J., 1963, **87.**
7. Adams R. D., Denny-Brown D., Pearson C. M., în *Diseases in muscle. A study in pathology*, Kimpton, Londra, 1962, p. 194.
8. Afanasiev V. G., Probleme de filozofie, 1963, *5,* 37.
9. Akhabadze L. V., DAN, 1959, **128,** *2.*
10. Akhabadze L. V., DAN, 1960, **132,** 1210.
11. Akhabadze L. V., DAN, 1964, **154,** 978.
12. Akhabadze L. V., DAN, 1966, **170,** 478.
13. Akhabadze L. V., DAN, 1966, **170,** 730.
14. Alivisatos S. G. A., Stern K., Savich B., Lukacs L., Biul. eksp. biol. med., 1960, **103,** *3.*
15. Allard C., De Lamirande G., Cantero A., Cancer Res., 1957, **17,** 862.
16. Allbrook D., Anat. Rec., 1961, **139,** 201.
17. Allbrook D., J. Anat. (Lond.), 1962, **96,** 137.
18. Allbrook D., Baker W., Kirlaldy W. H., J. Bone Jt. Surg., 1966, **40 B,** 153.
19. Allegri A., Boll. Soc. Med. Chir., Padova, 1951, **113.**
20. Alov I. A., DAN, 1955, **104,** 783.
21. Alov I. A., DAN, 1956, **111,** 190.
22. Altschul R., Z. Zellforsch. mikr. Anat., 1962, **56,** 425.
23. Anders M., Acta physiol. scand., 1953, **30,** Suppl., 148.
24. Anicikov N. N., Bul. ştiinţ. Acad. R.P.R., Secţ. şt. med., 1950, **2,** 1.
25. Anicikov N. N., Volkova K. G., Garşin G., *Morfologhiia zajivaniia ran*, Izd. Akad. med. nauk SSSR, Moscova, 1951.
26. Anton H. J., Experientia, 1955, **9,** 129.
27. Anton H. J., Experientia, 1955, **11,** 154.
28. Anton H. J., Z. Naturforsch., 1955, **10 b,** 723.
29. Anton H. J., Arch. Entw. Mech., 1956, **149,** 26.
30. Anton H. J., Arch. Entw. Mech., 1961, **153,** 363.
31. Anton H. J., Arch. Entw. Mech., 1961, **161,** 49.
32. Anton H. J., în *Regeneration in animals*, sub red. V. Kiortsis şi H. A. L. Trampusch, North Holl. Publ. Co., Amsterdam, 1965, p. 377.
33. Aquist S., Anderson E. P., Acta chem. scand., 1956, **10,** 1583.
34. Ardy C., Pontremali S., Arrigo L., Pathologica, 1950, **46,** 16.
35. Arey L. B., Anat. Rec., 1932, **51,** 299.
36. Arey L. B., Physiol. Rev., 1936, **16,** 327.
37. Argyris T. S., Anat. Rec., 1956, **126,** 1.
38. Aron M., *Vie et reproduction*, Masson, Paris, 1929.
39. Ashbaugh A., Singer M., Anat. Rec., 1957, **128,** 518.
40. Autuori F., Rend. Ist. Sci. Camerino, 1963, **4,** 135.
41. Autuori F., Bucelli E. M., Rend. Ist. Sci. Camerino, 1962, **3,** 176.
42. Avel M., C. R. Soc. Biol., 1932, **109,** 337.
43. Avel M., C. R. Soc. Biol., 1932, **109,** 417.

Scanned with OKEN Scanner

La régénération des tissus et des organes chez les vertébrés

Résumé

Dans le cadre de cette monographie, les auteurs exposent — à la suite d'une longue expérience concernant la biologie de la régénération — leur propre conception sur le processus régénératif. En dehors des problèmes de conception, le livre contient aussi de nombreuses données d'ordre analytique qui épuisent presque complètement tous les problèmes que pose le processus régénératif.

La régénération est définie comme la propriété fondamentale de l'organisme vivant de rétablir — plus ou moins complétement — son intégrité lésée par accident. Ce processus revêt 3 formes fondamentales: la régénération physiologique, la régénération réparatrice et la régénération atypique. La régénération réparatrice connaît — à son tour — les formes de régénération complète, incomplète et hypertrophique. Les formes de la régénération atypique sont la régénération par hypermorphose, la régénération métaplasique, la hypertrophie compensatrice et l'autotomie. Indifféremment de la forme de régénération, l'organisation du régénérat se fait soit par épimorphose, soit par morphallaxis.

L'étude de la régénération des organes externes a en vue la position phylogénétique des êtres vivants. Ainsi, l'on souligne le fait que la régénération des Vertébrés inférieurs est due à l'apparition du blastème de régénération, tandis que celle des Vertébrés supérieurs a lieu par la formation d'un tissu de granulation.

L'on passe ensuite en revue, en les décrivant analytiquement, la morphogenèse et l'histogenèse régénératrice des différents organes externes et internes, chez les diverses classes de Vertébrés. L'on considère la régénération des organes internes comme une régénération hypertrophique dans le cas des organes impairs et — respectivement — comme une hypertrophie compensatrice, la régénération des organes pairs. Les mécanismes intimes qui assurent la régénération des organes internes sont — dans une première phase — l'hyperplasie cellulaire, suivie — dans une deuxième phase — par l'hypertrophie des éléments cellulaires ou bien aussi par celle de tous les éléments de structure de l'organe affecté.

Le point de vue des auteurs est celui d'après lequel la capacité de régénération des organes internes est directement dépendante de la position phylo-

Scanned with OKEN Scanner

génétique des animaux. Les organismes plus évolués du point de vue structural, de l'organisation régénèrent plus rapidement et plus efficacement leurs organes internes lésés.

En partant de ce point de vue, l'on commente — sous l'aspect morphologique — la régénération d'une grande partie des organes internes, du système nerveux, des organes des sens, du cartilage, des muscles et des os.

La régénération est considérée par les auteurs comme une réactualisation des potentialités de croissance et de différenciation des tissus et des organes, dans les conditions de l'action d'un agent nocif qui trouble l'équilibre préexistant entre les tissus et les organes. En tenant compte de la théorie des systèmes biologiques, la régénération est considérée comme le résultat de la modification des interactions qui s'établissent au sein et entre les sous-systèmes qui forment un système vivant intégral. Elle est un phénomène dicté, réalisé et coordonné par de nombreuses interactions qui fonctionnent comme des forces motrices. Ces forces motrices sont actualisées par la rupture de l'équilibre général préexistant entre les différents tissus et organes, rupture provoquée par l'action d'un agent nocif. La régénération dépend — en premier lieu — des structures de la région lésée, des possibilités de ces structures d'engendrer des interactions morphogénétiques et — en deuxième lieu — de la fonctionnalité de tous les facteurs intégrateurs de l'organisme.

Il y a trois catégories de forces motrices de la régénération:

— Les forces motrices locales intra- et inter-sous-systémiques;
— Les forces motrices systémiques;
— Les forces motrices extra-systémiques.

Les forces motrices locales, intra- et inter-sous-systémiques sont nombreuses. Parmi ces forces motrices l'on distingue:

— L'interrelation entre l'épiderme et les tissus sous-épithéliaux;
— L'interrelation entre le régénérat et les tissus restants;
— L'interrelation entre le tissu nerveux local et le blastème;
— L'interrelation entre les phénomènes de destruction et ceux de multiplication cellulaire;
— L'interrelation entre les humeurs locales;
— L'interrelation entre les substances chimiques cellulaires.

Les forces motrices systémiques concernent l'action de l'organisme intégral sur le régénérat, ainsi que les interrelations entre le système nerveux central, les humeurs de l'organisme et le blastème régénératif.

Les forces motrices extra-systémiques concernent l'action des facteurs mésologiques qui influencent les phénomènes régénératifs.

L'extinction de l'une ou de plusieurs forces motrices peut entraîner l'inhibition ou la suppression d'un certain processus régénératif. C'est le cas chez les Vertébrés supérieurs où la capacité régénératrice des organes externes diminue par l'extinction de certaines forces motrices. En échange, chez les mêmes animaux l'on constate une forte augmentation du pouvoir régénératif des organes internes, fait dû au déroulement et au développement d'autres catégories de forces motrices.

Il y a aussi, en dehors des ces forces motrices qui induisent le processus régénératif, d'autres forces qui contrôlent son déroulement et son arrêt au moment opportun. Le mécanisme par lequel agissent ces forces est celui du « feed-back » et intéresse surtout les processus métaboliques.

Scanned with OKEN Scanner

Les auteurs s'occupent ensuite des mécanismes généraux du processus régénératif, tels que les bases biochimiques, nerveuses et hormonales du processus de restitution. Le chapitre concernant les bases biochimiques de la régénération contient des données sur le métabolisme glucidique, lipidique et protéique du régénérat chez les Vertébrés. L'on souligne que — au cours de la régénération — les modifications biochimiques précèdent les modifications morphologiques, la morphogenèse n'étant que l'expression visible des processus métaboliques qui ont lieu au niveau des organes en régénération. L'on constate que les interrelations biochimiques qui s'établissent entre les différents tissus régénératifs sont des forces motrices de la régénération. Enfin, l'on constate que les modifications biochimiques qui apparaissent pendant la régénération dépendent de l'espèce étudiée, de l'âge de l'animal, du tissu ou de l'organe examiné, de l'étape du processus régénératif, de l'infection de la plaie, ainsi que du rythme circadien du métabolisme.

Le chapitre concernant le rôle du système nerveux sur le processus régénératif permet aux auteurs d'élaborer certaines conclusions importantes. L'on constate que le système nerveux, grâce à sa différenciation évolutive, subordonne partiellement les phénomènes restitutifs. En général, l'inhibition de l'activité nerveuse provoque l'inhibition de la régénération, tandis que l'intensification de l'activité nerveuse provoque l'accélération restitutive. Le rôle trophique et inducteur du système nerveux lui confère une influence régulatrice importante sur les processus régénératifs. L'interruption de l'action nerveuse sur les tissus en régénération conduit à la suspension des influences neurotrophiques et — en conséquence — à l'inhibition ou au ralentissement du processus.

L'on ne connaît pas encore très bien les mécanismes par lesquels le système nerveux intervient dans l'orientation de la trophicité des tissus et dans la morphogenèse régénératrice. Il paraît toutefois que l'action trophique se réduit à un contrôle neuronal quantitatif, ayant parfois des effets qualitatifs. Le système nerveux influence les processus métaboliques, or les processus morphogénétiques ne sont que l'expression visible du métabolisme. En déréglant la consommation d'oxygène nécessaire aux processus morphogénétiques, l'offense du système nerveux conduit à l'inhibition de la croissance et de la différenciation du régénérat. Dans ce cas, la respiration tissulaire se déroule plus lentement et incomplètement, grâce à un processus anaérobe au sein duquel sont utilisés, comme sources d'énergie, les groupes macroergiques.

Les troubles nerveux ayant des répercussions sur la régénération intéressent tous les segments du système nerveux central et périphérique. Ainsi, chez les poïkilothermes, le rôle majeur en ce qui concerne l'influence du système nerveux sur la régénération revient au diencéphale. Chaque lésion du diencéphale (mais aussi celles du mésencéphale, de la moelle épinière et des ganglions spinaux) conduit à un retardement ou bien à une inhibition de la formation du blastème, à une réduction du volume de l'organe en régénération et à des modifications de sa différenciation.

Dans le cadre de la régénération des extrémités, la moelle épinière joue probablement un rôle similaire aux nerfs, assurantun apport important — quantitatif — de fibres nerveuses indispensables à la formation du blastème. Mais l'action de la moelle épinière reste non spécifique, étant seulement

Scanned with OKEN Scanner

un organe de transmission d'une sécrétion diencéphalique ayant un rôle actif dans les processus d'induction de la régénération.

L'action du système nerveux périphérique sur les processus régénératifs est variable, dépendant de certaines conditions. Ainsi, chez les jeunes embryons — aneurogènes — la régénération peut avoir lieu aussi dans l'absence des fibres nerveuses périphériques. Chez les embryons innervés, ainsi que chez les organismes adultes, la dénervation empêche la formation, donc la croissance et la différenciation du régénérat.

Il paraît que les nerfs ont une action non spécifique sur la différenciation morphogénétique des potentialités d'un certain territoire. Il paraît aussi que le nombre des fibres nerveuses qui arrivent à la plaie et à l'aire de régénération joue un rôle capital.

Les expériences de l'école de Singer démontrent la nécessité de l'existence d'un certain seuil quantitatif de fibres nerveuses, afin que la régénération puisse avoir lieu. Cela suggère que les nerfs agissent sur les processus régénératifs plutôt d'une manière quantitative que qualitative. Mais, en dernière instance, il paraît que la régénération ne dépend pas tellement du nombre des fibres nerveuses, que de la densité de l'innervation au niveau de la surface d'amputation, ainsi que de la réaction de réponse des tissus. Ce fait explique la différence de réaction régénératrice entre les tissus adultes et les tissus embryonnaires. La contribution des nerfs à la détermination du processus régénératif se fait par l'intermédiaire d'une neurosécrétion qui agit au niveau de l'aire régénératrice.

Les nerfs servent en même temps comme voie de migration des cellules mésodermiques dédifférenciées provenant du moignon d'amputation, cellules qui servent à la formation du blastème de régénération.

L'action du système nerveux dépend aussi de nombreuses autres conditions, telles que: l'espèce de l'animal, le tissu ou l'organe impliqué, le moment où a lieu le trouble nerveux par rapport aux phases de la régénération, l'âge de l'animal et la nature de la réactivité des tissus de la plaie.

En ce qui concerne l'action des hormones sur le processus régénératif, l'on souligne l'importance de la dépendance du processus régénératif des fluctuations de l'équilibre hormonal. L'intervention des hormones sur la régénération est presque aussi importante que celle des facteurs nerveux. Il paraît que la perte de la capacité régénératrice des extrémités chez les anoures adultes est déterminée aussi — dans une certaine mesure — par les facteurs de nature hormonale. D'autre part, la régénération du type compensateur est — en grande partie — dépendante des sécrétions endocrines (dépendance évidente surtout dans le cas de la régénération hépatique).

Les auteurs discutent ensuite — dans le cadre des mécanismes locaux de la régénération — le rôle de l'épithélium régénératif, le rôle et les potentialités du blastème et du moignon d'amputation, la compétence des champs morphogénétiques, ainsi que les interrelations entre les tissus de l'organe en régénération. Il en tirent la conclusion que l'inhibition du processus régénératif résulte — normalement — par dénervation, par élimination de l'épithélium régénératif ou par déplétion des tissus mésodermiques. La régénération des organes externes n'a pas lieu lorsque l'on abolit — par voie expérimentale — les interrelations entre le système nerveux et les tissus sous-épithéliaux, quoique les interactions entre le système nerveux et l'épithélium restent présentes. Il en résulte que l'interaction primaire, décisive, est celle qui s'établit

Scanned with OKEN Scanner

entre le système nerveux et les tissus sous-épithéliaux, l'action du système nerveux sur l'épithélium étant secondaire. La réactivité du mésenchyme à l'action du système nerveux est donc une condition principale pour le déroulement normal du processus régénératif. Quand cette réactivité est faible, la régénération des organes externes ne peut pas avoir lieu, s'accomplissant seulement par supplémentation nerveuse.

Il en résulte que l'extinction de la capacité régénératrice, ainsi que la détermination du processus régénératif (chez les animaux qui possèdent cette qualité) ne peut être attribuée exclusivement à l'innervation, à l'absence de l'épithélium ou au pourcentage inadéquat des tissus mésodermiques, mais que l'on peut incriminer plutôt l'absence ou la présence des interactions entre les 3 éléments: tissu épithélial, tissu mésenchymateux et système nerveux. Dans le cadre de ces interactions, le rôle primordial revient au tissu mésenchymateux. Aucun de ces tissus, séparés, n'a une spécificité d'action, la spécificité résultant seulement de leurs interrelations.

Les auteurs s'occupent ensuite du phénomène de la régénération du point de vue de la théorie des systèmes, considérant que ce processus peut être étudié sous 3 aspects: comme phénomène local, sous-systémique et systémique. Ainsi, du point de vue local ou sous-systémique, le processus régénératif n'est que partiellement dépendant de l'unité que forme l'organisme total. Dans le cas de la régénération des organes externes, l'on constate la prédominance de l'aspect local du phénomène de restitution, tandis que dans l'hypertrophie régénératrice des organes externes il y a prédominance de l'aspect sous-systémique (dans cette dernière forme de régénération n'étant pas impliquées des réorganisations morphogénétiques étendues).

L'aspect systémique de la régénération est évident dans le cadre de la détermination des axes de polarité au sein des bourgeons régénératifs et dans la différenciation du régénérat. La morphohistogenèse du régénérat est le produit de deux catégories de processus systémiques, notamment les *processus de détermination*, grâce auxquels apparaissent les ébauches initiales du régénérat, et les *processus d'induction*, grâce auxquels se réalise la structure du régénérat.

A la base des processus de détermination résident les facteurs systémiques d'ordre génétique qui établissent les potentialités virtuelles morphogénétiques et histogénétiques. À la base des processus d'induction résident les interrelations sous-systémiques et systémiques qui s'imposent dès le début de la régénération. Ces interrelations conduisent à la valorisation des potentialités génétiques virtuelles. Le jeu entre les processus d'activation (différenciation du régénérat) et les processus d'inhibition (limitation et arrêt de la régénération) conduit à la régulation de tous les processus morphophysiologiques de la restitution des organes.

Nombreux sont les facteurs internes et externes qui peuvent intervenir dans la modification du processus régénératif. Ainsi, les radiations ionisantes et non ionisantes, les ultrasons, les substances chimiques, les facteurs biologiques, les facteurs alimentaires, l'âge, ainsi que les caractères de la plaie influencent le déroulement du processus régénératif. Dans tous les cas, la séquence des processus morphologiques, biochimiques et physiologiques de la régénération est contrôlée — quantitativement et qualitativement — tant

Scanned with OKEN Scanner

par des facteurs mésologiques, que par des facteurs internes (conditions génétiques et épigénétiques, conditions locales, proximales ou distales vis-à-vis du régénérat).

Les hétéromorphoses, qui sont des structures régénératrices impropres au lieu où elles se forment, apparaissent comme des organes surnuméraires, organes asymétriques, etc. Leur déterminisme est lié à la présence de facteurs multiples: l'aspect de la surface d'amputation; la sous-division des sous-systèmes morphogénétiques; la modification — par expérimentation — de la position de la coiffe apicale épithéliale; le lieu et la nature de la section; les excitations locales au niveau de la surface d'amputation; la déviation des nerfs vers le voisinage immédiat de la zone d'amputation; la déviation latérale de la moelle épinière. Du point de vue biologique, le problème des hétéromorphoses est très important, vu leur « incorporation » au sein de l'organisme. Les hétéromorphoses sont le plus souvent éliminées par l'organisme ou sont soumises à une régulation secondaire qui approche leur structure et leur forme du type primitif normal. Pendant leur fonctionnement, les régénérations atypiques se caractérisent par une véritable orthopédie fonctionnelle.

En ce qui concerne la régénération chez les embryons, les auteurs décrivent — d'une part — les aspects caractéristiques de la restitution pendant le déroulement des jeunes stades du développement embryonnaire et — d'autre part — les similitudes et les dissimilitudes entre le développement embryonnaire normal et la restitution régénératrice. Dans les deux processus interviennent des phénomènes d'induction et d'inhibition; les mêmes processus prolifératifs gouvernés par les mêmes mécanismes assurent la croissance du volume de la biomasse. Il existe aussi des similitudes d'ordre biochimique concernant l'accumulation de l'ARN, le catabolisme glucidique, la synthèse des protéines, le métabolisme respiratoire. Les différences entre les deux processus sont tout de même significatives: la nature de la régulation systémique, l'envergure des potentialités des ébauches sont différentes. A ces différences s'ajoutent les différences concernant l'intensité des processus prolifératifs, les éléments constitutifs de la morphogenèse embryonnaire et de la morphogenèse régénératrice, la vitesse des processus, la dépendance de l'innervation. Le champ morphogénétique régénérateur forme une unité, tandis que le champ morphogénétique embryonnaire est divisé. Il en résulte que si le processus régénérateur présente maints aspects similaires au développement embryonnaire, il en diffère par beaucoup d'autres aspects. Le résultat final des deux processus reste pourtant le même.

En interprétant la corrélation entre la régénération et la phylogenèse, les auteurs considèrent qu'il n'y a pas une évolution du processus régénératif, mais seulement différentes formes de la régénération en fonction de la position phylogénétique des êtres vivants. La sélection naturelle a un rôle dans les phénomènes de régénération, non pas en ce qui concerne les mécanismes de restitution, mais plutôt dans la « recherche » de nouvelles voies, plus efficientes, qui puissent conduire à la réalisation d'un produit final ayant une valeur réelle en ce qui concerne la survivance. Chez les organismes inférieurs, la régénération prend surtout l'aspect de l'embryogenèse somatique, phénomène qui représente une négation de l'individualité en faveur de l'espèce. L'utilité de ce processus est discutable étant donné qu'il est superposable à la reproduction. La régénération des extrémités des urodèles — ayant une détermination génétique — représente l'expression de l'autoconservation des indi-

Scanned with OKEN Scanner

vidus. En tenant compte du nombre des individus mutilés et régénérés qui peuvent accomplir leurs fonctions majeures en regard des nécessités de l'espèce, la valeur du processus de restitution reste douteuse. La régénération représente un phénomène adaptatif seulement dans les cas peu nombreux où le régénérat reproduit fidèlement l'original.

La régénération compensatrice des Vertébrés supérieurs a comme fondement la régénération physiologique, cas où la détermination génétique est absente. Elle représente un phénomène promu et perfectionné par la sélection naturelle. L'utilité du processus ne regarde pas, en ce cas, seulement l'individu, mais aussi l'espèce.

Dans les conditions de la vie terrestre, la sélection naturelle, en annulant la capacité de reconstruction des membres, agit dans le sens du perfectionnement d'autres traits des organismes vivants, traits qui assurent aux derniers une autonomie réelle face au milieu, un réel progrès biologique.

La perte de la capacité de régénération des extrémités chez les Vertébrés supérieurs est due à plusieurs causes, dont:

— La conservation de l'homéostasie de l'organisme, qui est une aquisition plus importante pour les organismes supérieurs, étant promue par la sélection naturelle au détriment de la fonction régénératrice;

— La formation d'une cicatrice fibreuse au niveau de la plaie, qui est nécessaire à la fermeture de la voie d'accès des microorganismes. Cette barrière gêne les interrelations intertissulaires, forces motrices de la régénération;

— Les extrémités des Vertébrés supérieurs (oiseaux, mammifères) représentent les organes principaux de la réalisation de la séclusion. Elles ne se régénèrent pas, parce que — du point de vue biologique — leur reconstitution serait un non-sens. Étant des organes d'importance vitale dans la réalisation de la séclusion, leur perte est incompatible avec leur survie, même pour un temps limité.

Scanned with OKEN Scanner

Redactor: ANA TEODORESCU

Tehnoredactor: SILVIA ROTARU

Bun de tipar. 11.05.1976. Tiraj 1420. Hîrtie scris I. A. tratată cu 83% grad alb, format 16/70×100 de 70 g/m². Coli de tipar 20.

C.Z. pentru biblioteci mari { *596 — 116.9*
C.Z. pentru biblioteci mici

Tiparul executat sub comanda nr. 23 la Întreprinderea Poligrafică „13 Decembrie 1918" str. Grigore Alexandrescu nr. 89—97 București, Republica Socialistă România

Scanned with OKEN Scanner

Studiul continuativ al uneia și aceleiași probleme este incontestabil avantajos în cercetarea științifică.

Eforturile sumate ale celor doi autori, reprezentanți prestigioși ai școlii de specialitate clujene, acoperă jumătate de secol de studiu perseverent al restituției diferitelor țesuturi și organe la variate specii de animale.

Rod al acestei munci îndelungate, monografia de față reprezintă cea dintîi lucrare de sinteză asupra regenerării în literatura științifică românească, abordînd toate problemele majore ale acestui atît de important fenomen.

De semnalat că, în partea finală a lucrării, sînt detaliate opiniile personale ale autorilor în legătură cu procesul regenerativ în desfășurarea lui filogenetică, proces interpretat în lumina progreselor realizate în dezvoltarea biociberneticii, în teoria informației, în reglajul automat, în teoria programării și a codificării.

Prin complexitatea problemelor tratate, lucrarea reușește să aibă o largă adresabilitate, cuprinzînd deopotrivă pe cercetătorii consacrați, pe doctoranzi și pe studenții dornici să cunoască fenomenul de regenerare.

Scanned with OKEN Scanner